

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA**

**E. A. P. DE MEDICINA VETERINARIA**

**Recuento de bacterias aerobias mesofilas totales en  
canales bovinas mediante el método de hisopado en un  
camal de Lima Metropolitana**

**TESIS**

para optar el título profesional de Médico Veterinario

**AUTORA**

**Lucero Regina Espino Stuard**

**Lima – Perú**

**2006**

**CON TODO CARÍÑO A MIS QUERIDOS PADRES, A MI TIO JUAN Y A MIS  
HERMANOS: VICENTE, DANIEL, DAVID, ESTRELLA, PERLA Y GIULIO EN  
AGRADECIMIENTO A TODO EL APOYO BRINDADO A LO LARGO DE MI  
CARRERA**

**A MI ESPOSO ALDRIN Y A MI HIJITA ANEL QUIENES SON EL MOTOR DE  
MI VIDA.**

**A MIS AMIGOS: TEREZA CABELLO, MARIELA NIEVES, IRENE SULCA, IVAN  
GORDILLO, PACO FREDY, CHARO RIOS, DAVID ALWUAY, ALICIA LOPEZ,  
PATY KONG, KARINA RIQUEZ, LUZ LUJAN, IVAN DE LA CRUZ, GINA  
LEANDRO, COPAS, TIGRE, A TODA MI PROMOCION POR TODOS LOS  
MOMENTOS FELICES EN LA FACULTAD.**

**MI AGRADECIMIENTO A LOS DOCTORES MORENO GARCIA B., MIGUEL A.  
VILCA, MARIA L. FLORES Y A LOS INGENIEROS ERIDA EGOAVIL Y  
ALDRIN DEXTRE R. POR EL ASESORAMIENTO EN EL PRESENTE TRABAJO.**

## TABLA DE CONTENIDOS

Resumen.....	iv
Abstract.....	v
Contenido.....	vi
Lista de Gráficos .....	ix
Lista de Cuadros .....	x
Lista de Tablas .....	xi
Lista de Fotografías.....	xii
Lista de Anexos.....	xiii

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>II.</b>	<b>REVISION BIBLIOGRAFICA.....</b>	<b>4</b>

Microbiología Cárnica.....	4
Flora Aerobia Mesofila.....	7
La microflora Congénita de los Rumiantes y su Evolución.....	7
Ecología del Desarrollo Microbiano en la Carne.....	8
Alteración de la Carne.....	9
Fuentes de Contaminación Microbiana en la Carne.....	10

Bacterias Intrínsecas.....	10
----------------------------	----

Invasión Ante mortem.....	11
Invasión Agonal.....	11
Invasión Post mortem.....	11

Microorganismos de la Piel.....	12
Microorganismos del Tracto Gastrointestinal.....	12
Microorganismos del Aire Atmosférico.....	14
Contaminación de la Canal durante las Operaciones de Faena.....	14
Contaminación de la Superficie de la Canal.....	14
Contaminación de la Canal después e las Operaciones de Faena.....	15
Recuentos Microbianos obtenidos en Estudios Anteriores.....	16
Limites Microbiológicos en Canales bovinas.....	16
Métodos para la Numeración de Microorganismos en la Carne.....	21
Técnicas para mejorar la Calidad Higiénica de la Carne.....	22
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
Lugar de Estudio.....	24
Animales.....	24
Procesos Generales de Sacrificio.....	24
Materiales y Equipos.....	25
En la Toma de Muestras.....	25
En el Laboratorio.....	25
Tamaño de la Muestra Poblacional.....	25
Características del Muestreo Cárnico.....	25
Lugares de Muestreo.....	25

Toma de Muestra.....	26
Preparación de la Muestra y Cultivo Microbiano.....	30
Cálculo de los Resultados.....	30
Cálculo del número de microorganismos por ml o número de colonias por ml.....	30
Cálculo del número de microorganismos por Canal investigada.....	31
Expresión de los Resultados.....	31
4. Análisis de Datos.....	31
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>38</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>39</b>
<b>VII. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>40</b>
<b>VII. ANEXOS.....</b>	<b>49</b>

## LISTA DE GRAFICOS

<b>Grafico No 1.</b> Limites Microbiológicos para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en Canales Bovinas según la Legislación vigente por el método destructivo (C.O.C.E, 2001; FSIS/USA, 2001; SENASA/ARGENTINA, 2004; SAG/CHILE, 2001).....	19
<b>Grafico No 2.</b> Limites microbiológicos para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en canales bovinas Transposición Inglesa de la Decisión 471/2001. Secretary of state for health, 2002.....	19
<b>Grafico No 3.</b> Preparación de las Diluciones a partir de la Dilución Primaria.....	27
<b>Grafico No 4.</b> Expresión de los Resultados en Log ufc/cm <sup>2</sup> .....	37
<b>Grafico No 5.</b> Resultados Porcentuales para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas en Canales Bovinas.....	37

## LISTA DE CUADROS

<b>CUADRO No 1.</b> Número de Colonias contadas para la Primera Dilución o ( $10^{-2}$ ) y Segunda Dilución o ( $10^{-3}$ ).....	35
<b>CUADRO No 2.</b> Cálculo del Número de Microorganismos por ml.....	35
<b>CUADRO No 3.</b> Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en ufc/cm <sup>2</sup> .....	36
<b>CUADRO No 4.</b> Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en Log. Ufc/cm <sup>2</sup> .....	36



## LISTA DE TABLAS

**TABLA No 1:** Límites aceptables, dudosos e inaceptables de contaminación (expresados en ufc/cm<sup>2</sup>) muestras tomadas mediante el método destructivo. (C.O.C.E, 2001).....20

**TABLA No 2.:** Límites aceptables, dudosos e inaceptables de contaminación (expresados en ufc/cm<sup>2</sup>) muestras tomadas mediante el método no destructivo: hisopado o torundas de algodón. Transposición Inglesa de la Decisión 471/2001/CE. (Secretary of state for health, 2002).....20

## LISTA DE FOTOGRAFIAS

<b>FOTOGRAFIA No 1:</b> Sangría.....	6
<b>FOTOGRAFIA No 2:</b> Evisceración.....	6
<b>FOTOGRAFIA No 3:</b> Desollado.....	6
<b>FOTOGRAFIA No 4:</b> Lavado.....	13
<b>FOTOGRAFIA No 5:</b> Oreo.....	13
<b>FOTOGRAFIA No 6:</b> Colocación del marco estéril.....	13
<b>FOTOGRAFIA No 7:</b> Hisopado en Pecho.....	28
<b>FOTOGRAFIA No 8:</b> Hisopado en Cadera.....	28
<b>FOTOGRAFIA No 9:</b> Hisopado en Falda.....	28
<b>FOTOGRAFIA No 10:</b> Recolección de las muestras.....	29
<b>FOTOGRAFIA No 11:</b> Cultivo Microbiano.....	29
<b>FOTOGRAFIA No 12:</b> Lectura de las Petrifilm.....	29

## **LISTA DE ANEXOS**

<b>ANEXO 1:</b> Ejemplo del Cálculo de microorganismos por área.....	49
<b>ANEXO 2:</b> Marco para delimitar la superficie de muestreo.....	50
<b>ANEXO 3:</b> Preparación de los hisopos y detalle del procedimiento Hisopo húmedo – hisopo seco.....	51
<b>ANEXO 4:</b> Lugar de Toma de Muestra Cárnica.....	52
<b>ANEXO 5:</b> Control de la Temperatura de Incubación.....	53
<b>ANEXO 6:</b> Flujo de Proceso de Planta de Faenamiento de ganado vacuno.....	54
<b>ANEXO 7:</b> Decisión de la Comisión 2001/147/CE.....	56

## RESUMEN

La finalidad de los exámenes microbiológicos en el camal es evaluar el grado de higiene de los procesos de faena, ya que los principales agentes infecciosos e intoxicaciones alimentarias llegan a la carne durante estos procesos, el presente estudio se desarrolló en un camal de Lima metropolitana, entre los meses de octubre y noviembre del 2004, se muestrearon 30 canales bovinas al azar, un día por semana, en días alternos durante 4 semanas. el objetivo fue determinar la contaminación microbiológica de las canales mediante el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales antes de la conservación en frío, se utilizó el método de muestreo no destructivo del hisopado y un medio de cultivo rápido, Petrifilm, se hisopó falda, pecho, cuello y cadera; (100 cm<sup>2</sup> por área) según lo establece la legislación vigente, los datos fueron expresados en Logaritmos de unidades formadoras de colonias ufc/cm<sup>2</sup>; encontrando los siguientes valores: 2.69, 2.75, 3.19, 2.23, 2.49, 2.84, 2.42, 3.18, 2.72, 2.44, 2.70, 3.27, 2.92, 2.9, 2.52, 3.08, 2.79, 2.01, 3.10, 4.11, 3.99, 4.39, 1.95, 3.08, 2.97, 3.27, 3.39, 2.59, 3.51, 3.45; siendo contrastados con límites microbiológicos diseñados en el presente correspondiendo a un nivel de 43.33 % de aceptabilidad, la 53.3 % al área dudosa y 3.3 % de inaceptabilidad, siendo el promedio de estos 3.04 Log ufc/cm<sup>2</sup>, los resultados muestran una S: 0.568 y un C.V: 18.58 %.

Palabras clave: Canales, faena, bacterias, aerobias, camal.

## ABSTRACT

The finality from the exams microbiological in the slaughterhouses, is gauge the gradation the hygiene from process the slaughtered meat, the principals agents infeccctions e intoxication alimentary to arrive a the meat during this process, the present study to develop in an slaughterhouses of Lima metropolitan , betwixt the months of October and November of 2004, to sampling 30 slaughtered meat cattles the hazard, an day for week, in days alternates during 4 weeks, the objetive was to determine the contamination microbiological of the slaughtered means of the Recount of aerobic bacterias mesophilic Totals before of the conservation in cold, to utilized the method of sampling not destructive from swabs and an medium of culture rapid the Petrifilm, to swabs the successive areas: rump, flank, brisket, neck; 100 cm<sup>2</sup> for area, on the establish the legislation actual, the datas the expressing in terms of logaritmos of colonys formings units per cm<sup>2</sup> (ufc/cm<sup>2</sup>), was: 2.69, 2.75, 3.19, 2.23, 2.49, 2.84, 2.42, 3.18, 2.72, 2.44, 2.70, 3.27, 2.92, 2.9, 2.52, 3.08, 2.79, 2.01, 3.10, 4.11, 3.99, 4.39, 1.95, 3.08, 2.97, 3.27, 3.39, 2.59, 3.51, 3.45; middle the this 3.04 Log ufc/cm<sup>2</sup> , this results indication a S: 0.568 y un C.V: 18.58 % , correspond an level of 43.3% of acceptability, 53.3% in the area of doubt, and 3.3 % of unacceptable.

Words Key: carcass, cattles, contamination, microbiological, swabs.

## **I. INTRODUCCIÓN**

En nuestro país una de las principales fuentes de proteína para la alimentación humana es la carne de bovino, con la consolidación en los últimos años de grandes autoservicios y supermercados, se ha dado origen a una mayor competitividad y por tanto exigencia en cuanto a la calidad y sanidad de la carne que se ofrece al consumidor. El panorama nacional de la industria bovina que da origen a la carne para consumo está determinado por diversos procesos relacionados con la producción agropecuaria, la salud pública y el comercio exterior. En este panorama la necesidad del aseguramiento de la inocuidad de la carne se ha convertido en una necesidad prioritaria y una exigencia cada vez mayor.

Con respecto al beneficio de ganado vacuno en nuestro país, éste se caracteriza por su elevada heterogeneidad en el tamaño de las empresas, los mercados a los que se dirigen, los niveles tecnológicos usados en el país. A nivel nacional existen 358 camales, de los cuales solo el 26% cuentan con autorización y el 1% tienen un buen nivel tecnológico, lo que quiere decir que solo 4 establecimientos reúnen adecuadas condiciones técnicas, el

resto (más de 300) no reúnen las mínimas condiciones de higiene y de sanidad, por lo tanto su operatividad constituye un serio atentado contra la salud pública.

Otra gran preocupación es que en la gran mayoría de mataderos en nuestro medio, no se cumple con la Inspección Sanitaria, entre otras disposiciones contenidas en el Reglamento Tecnológico de Carnes. Existe concentración de la matanza, debido a que los camales con más capacidad de matanza (más de 10,000 cabezas por mes) representan el 0.84% de los establecimientos y tienen a su cargo el 23% de la matanza. En el otro extremo se ubica el 87% de las plantas (benefician menos de 1,000 cabezas por mes) que son responsables del 24% de la matanza. En Lima se beneficia el mayor porcentaje de ganado siendo los principales mataderos Impelsa, La Colonial SACIP, Hierbateros con 25%, 22% y 21% de participación en el beneficio de Lima Metropolitana.

La contaminación microbiológica de las canales puede ocurrir en todas las operaciones de faenamiento, almacenamiento, distribución y su intensidad depende de la eficiencia de las medidas higiénicas adoptadas. (Varnan, 1995; Quiroga, 2001, Jericho, 1998). El propio bovino es la mayor fuente de contaminación microbiana de las canales; la microflora de la piel, tracto gastro intestinal y respiratorio son reservorios de microorganismos y flora predominantemente saprofita. Por esto la carne en su proceso de obtención, se convierte en un alimento con alta probabilidad de generar enfermedad en el consumidor, por los microorganismos patógenos que llegan a ella, también se contamina por microorganismos saprofitos, que van a alterarla, a menos que se mantenga refrigerada o congelada. (Marsden, et al 1994). La importancia de las bacterias en relación a la carne, reside principalmente en que ellas están íntimamente ligadas al proceso de infección e intoxicación alimentaria.

La contaminación microbiana de la carne constituye un riesgo sanitario importante, además propicia la mayor rapidez en su descomposición, por lo cual debe ser controlada. Al ser los mataderos los lugares oficiales para el beneficio de los animales, estos deben cumplir con las normas sanitarias establecidas para verificar el control de la contaminación microbiana y garantizar condiciones mínimas de calidad higiénica y tecnológica de los productos que llegan al consumidor. El muestreo microbiológico de canales en matadero se

muestra como una herramienta utilizada a modo de evaluación interna sobre los métodos de faenado y manipulación de dichas canales.

El objetivo del presente estudio fue determinar la contaminación microbiológica de las canales mediante la determinación del Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales mediante el método de Hisopado en Canales de ganado bovino, en un Camal que cuenta con Buenas Prácticas de Manufactura y tiene instalado su programa de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), para la playa de faenamiento. Contrastando los resultados obtenidos con los límites microbiológicos definidos en el presente estudio, cuya importancia radica en que este paso es necesario para evaluar la higiene en las operaciones de carnización y para determinar la calidad sanitaria de la carne que se obtiene en el matadero. Éste estudio da a la industria cárnica y a las investigaciones que hacen referencia a la carne de bovino, una herramienta para ser usada en futuras investigaciones que se refieren a la calidad de ésta.



## **II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA**

### **2.1. MICROBIOLOGÍA CÁRNICA**

La contaminación microbiana de la carne, puede ocurrir en el propio matadero por contacto con la piel, pelos, patas, contenido gastro intestinal, urinario, leche de ubres, utensilios, manos y ropas de los operarios, agua utilizada para el lavado de las canales y aire de los locales de faenamiento y almacenamiento. (Varner, 1995; Oliveira, 2004; Bartels, 1980; Belk, 2001). En los mataderos, las manipulaciones incorrectas realizadas a lo largo de los procesos y especialmente en el faenado, influyen en la contaminación final de la superficie de las canales. (Bell, 1997; Sánchez et al, 2001). En muchos casos la contaminación por patógenos durante el faenado y la obtención de la carne es más importante que las propias enfermedades de los animales al menos en los países con un elevado nivel de sanidad animal. (Moreno, 2002).

La piel es considerada la fuente primaria de contaminación fecal que eventualmente es transferida al tejido estéril de la canal. (Lahr, 1996; Castillo, 1998). Durante el sangrado y no obstante el empleo de un cuchillo estéril, siempre existe el riesgo de contaminación de la canal, por presencia de bacterias en la piel incidida. (Jay, 2002, Carballo, 2001; Prändl, 1994). En las operaciones de faena son señalados: los corrales de espera, las operaciones de desollado y evisceración como puntos probables de contaminación cruzada. (NACMCF, 1993). (Fotografías N°: 1, 2, 3)

Los gérmenes que se encuentran habitualmente en el contenido intestinal, como *Escherichia coli*, indican contaminación fecal, con todos los riesgos añadidos que esto lleva consigo. Especialmente altas cifras de gérmenes totales son indicio de alguna deficiencia en la higiene durante la manipulación u otro tratamiento descuidado. (Restaino y Lion, 1987; Moreno, 2002). Las canales de animales pueden ser contaminadas durante el sacrificio y faenado por agentes tales como *Salmonella sp*, *E. coli* O157:H7, *Campilobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringes*, *Staphilococcus aureus* u otros patógenos como resultado de que ellos mismos están colonizados o porque se contaminan durante algunos de los procesos. (OPS/OMS, 2001).

Los animales pueden estar infectados clínicamente o convertirse en excretores fecales asintomáticos y transitorios de Salmonelas. (Hobbs, B., 1997). Existen evidencias que señalan al ganado bovino como reservorio de agentes patógenos transmisibles por alimentos debido a que varios estudios de exposición, relacionan epidemiológicamente el consumo de alimentos de origen animal con ETAS específicas. (Fernández, 2003; Varner, 1995; Castro, A., 2002; OPS/OMS, 2000; Ladeulina, 2002). No toda la contaminación proviene de los animales, también es posible que las carnes se contaminen con restos fecales de origen humano presentes en las manos de quienes las manipulan. (Borie, 1996). Los microorganismos patógenos derivados de personal infectado o portadores sanos incluyen: *Salmonelas spp*, *Shigella spp*, *Bacillus proteus*, *Staphilococcus aureus*, *Clostridium welchi*, *B. cereus*, *Cl. botulinium* y estreptococos fecales. (Lawrie, 1998)

Fotografía N° 1: Sangría



Fotografía N° 2: Evisceración



Fotografía N° 3: Desollado



## **2.2. FLORA AEROBIA MESOFILA**

Los recuentos de bacterias viables se basan comúnmente en el número de colonias que se desarrollan en placas de agar nutritivo que han sido previamente inoculadas con cantidades conocidas del alimento diluido e incubadas en condiciones ambientales predeterminadas; el recuento más comúnmente utilizado para indicar la calidad sanitaria de los alimentos es el recuento de bacterias aerobias mesófilas. (ICSMF, 1999). El control de la calidad microbiológica del procesado de la carne conlleva al desarrollo y uso de métodos diseñados para mantener baja la carga microbiana, reduciendo la contaminación e impidiendo su multiplicación. (ICMSF, 1996; Fernández-Gines, 2004). Para mantener una adecuada calidad higiénica en la carne se hace necesario que se controle de forma periódica tanto los manipuladores, las canales, el agua, como los utensilios utilizados durante el faenado del animal. (Latre, 1997; Jardim et al, 2004). Por supuesto también el modo de cómo deben realizarse las operaciones de faenado o carnización. La contaminación microbiana de una canal, por regla general, es superficial lo que debe tenerse en cuenta a la hora de la toma de muestras. Desde el punto de vista económico y práctico no es deseable utilizar el método llamado destructivo que lleva consigo el corte de una lámina superficial de tejido, sino, que se recomienda la técnica del frotado con hisopo. Las muestras de una misma canal pueden juntarse y mezclarse íntimamente para formar una única unidad analítica; como la contaminación de la carne es, a menudo, muy desigual, debiendo tomarse las muestras de diferentes partes de la canal, eligiendo aquellas que se contaminan más fácilmente y donde el crecimiento microbiano es más frecuente. (ICSMF, 1999).

## **2.3. LA MICROFLORA CONGÉNITA DE LOS RUMIANTES Y SU EVOLUCIÓN**

Al nacer el tracto digestivo de los rumiantes es fisiológicamente igual al de los monogástricos, el complejo retículo-ruminal se desarrolla rápidamente entre las 2 y 6 semanas de edad, a medida que los animales ingieren hierba y piensos. Al principio hay en el intestino un gran número de *E. coli*, *Cl. perfringes* y *Estreptococos* que forman parte de las heces ( $10^7$ /g -  $10^8$ /g *Cl. perfringes*,  $10^6$ /g *E. coli*). La gran

concentración de ácidos grasos volátiles y el PH del líquido ruminal, bien desarrollado, de los animales debidamente alimentados proporcionan cierta protección contra Salmonelas y E coli. En el intestino grueso de los rumiantes se halla con frecuencia *Campilobacter jejuni*. *E. coli* productor de la verotoxina (VTEC), se encuentra con frecuencia en heces de vaca. En la piel y cubierta pilosa del animal hay un gran número de microorganismos residentes: entre los que se incluyen Salmonelas y *L. monocitogenes* procedentes del ambiente: suelo, pastos y heces. (Oliveira, 2004). Durante el transporte de ganado vacuno desde la explotación ganadera al matadero, las Salmonelas y otros microorganismos de las heces contaminan los vehículos de transporte y las zonas de espera de los mataderos. Cuanto más tiempo permanecen los animales en los locales de espera del matadero, mayor será su contaminación externa y mayor incidencia de Salmonelas tendrán en el tracto intestinal. (ICSMF, 1998; Whitehead, 2000; Gallo, 1998; Forrest, 1979). Las heces contienen esporas de *Cl. perfringes* y *C. jejuni* en menor cantidad. El líquido ruminal puede contener Salmonelas. La piel y el pelo pueden llevar Salmonelas en número considerable; Patterson y Gibas en 1978 encontraron  $4 \times 10^6$  Salmonelas/g en el pelo del vacuno. En raspados de pezuñas se han encontrado 260 Salmonelas/g.

## **2.4. ECOLOGÍA DEL DESARROLLO MICROBIANO EN LA CARNE**

Por su composición la carne constituye un medio nutritivo que ofrece a la mayoría de microorganismos excelentes condiciones de multiplicación. Los factores más importantes para el desarrollo de los microorganismos en la carne son: el PH, la temperatura ambiental, la humedad y los nutrientes. Antes del sacrificio el PH normal del músculo está alrededor de 7.0 y luego del sangrado se produce un descenso gradual, que alcanza un valor crítico de 5.4; éste desciende en unas 24 horas desde la zona neutra hasta la zona ácida. (Fehlberk, 1995; Apple et al, 1995; Purchas, 1990). Este es un factor que influye sobre varios aspectos de la calidad de la carne, como la inhibición del crecimiento bacteriano. (Sánchez, 1999). El peligro de una alteración de origen bacteriológico es mayor cuando el PH ha alcanzado un valor de 6.2 a 6.5. (Bouton et al, 1971; Norman, 1982; Sanz et al, 1996). Con respecto a la capacidad de

conservación de las carnes, es sabido que la carne de los animales fatigados se altera con mayor rapidez que la de los animales descansados y que esto es una consecuencia directa del PH final que alcanza la carne. (Jay, 2002, Bouton et al, 1971; Norman, 1982; Sanz et al, 1996; Tarrant, 1980; Pearson, 1994). La temperatura ambiental es otro factor importante que permite la multiplicación microbiana; en términos generales a mayor temperatura, mayor velocidad de crecimiento; muchos microorganismos de la carne desarrollan a temperaturas comprendidas entre 0 °C y más de 65 °C, pero en general para un determinado microorganismo, el mayor crecimiento tendrá lugar en su temperatura óptima de crecimiento. (Prändl, 1994; Lawrie, 1998). Por otro lado el peritoneo es la estructura más resistente a la penetración bacteriana, seguida por la superficie externa y posteriormente por cortes superficiales. Las bacterias de la superficie de la carne no penetran en el tejido muscular profundo a menos que presenten altos conteos; la penetración no es inmediata, ya que depende de la actividad proteolítica de la bacteria, principalmente hidrólisis del colágeno y las enzimas responsables de esta hidrólisis, son producidas en fase logarítmica de crecimiento. (Gill, 1977).

A diferencia de los resultados obtenidos por Sises y Maxey en 1980 en que demuestran que la invasión bacteriana no está en función de la actividad colagenolítica presente en las proteasas bacterianas sino por un mecanismo altamente influenciado por la hidratación de las proteínas de la carne, auxiliado por poros y canales creados durante el congelamiento y descongelamiento de la carne o por la cocción de la carne. Posteriormente Gill y Penney en 1982 y Gill en 1984 observaron que el área de invasión bacteriana depende de la degradación proteolítica de la región entre la fibra muscular y grupos de fibras del endomisio. La micrografía electrónica mostró claramente que las bacterias invadían pequeños caminos formados en esta área después del rigor mortis. (Oliveira, 2004).

## **2.5. ALTERACIÓN DE LA CARNE**

Las carnes se alteran debido a una serie de microorganismos deteriorantes como *Pseudomonas spp*, *Shewanella*, *Enterobacteriaceae*, *Bochotrhix thermospacta*,

bacterias lácticas, levaduras y mohos. (ICSMF, 1998). Los microorganismos alterantes crecen rápidamente en la carne, lo que determina que este alimento sea muy perecedero. Por lo tanto el comercio cárnico, incluso a nivel local, depende de los sistemas de conservación que controlan la flora alterativa. (Camacho, 1982). Para satisfacer sus necesidades nutritivas y supervivencia, los microorganismos invasores alteran la carne de diversas maneras; en primer lugar, la carne se licúa debido a que el microorganismo secreta una colagenasa que hidroliza el tejido conectivo entre los haces de fibras causando su desintegración; a este cambio le sigue la producción de gas; los aminoácidos libres presentes son atacados por deaminasas y decarboxilasas, produciendo hidrogeno, dióxido de carbono, aminas y amoniaco; es principalmente por el ataque a los aminoácidos por lo que se producen olores hediondos y sabores desagradables. (Lawrie, 1998).

La formación de limo (viscosidad) superficial es un efecto observable debido a la coalescencia de un número suficiente de colonias microbianas individuales, colonias que al principio están separadas, de modo que cuanto menor sea la contaminación inicial más tiempo tardará en formarse el limo. Los cambios de coloración pueden deberse a la alteración o destrucción de pigmentos cárnicos: la mioglobina puede oxidarse a metamioglobina marrón, puede combinarse con SH<sub>2</sub>, producido por bacterias, para formar sulfomioglobina o ser degradada para formar pigmentos biliares amarillos o verdes por el peroxido de hidrógeno producido microbiológicamente.

## **2.6. FUENTES DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN LA CARNE**

### **2.6.1. BACTERIAS INTRÍNSECAS**

Ingram en 1949, definió los microorganismos presentes internamente en los tejidos de los animales sanos como “bacterias intrínsecas”, que pueden estar en los tejidos antes o después de la muerte, generalmente son provenientes del tracto gastrointestinal. A pesar de que algunos autores consideran la porción interna del músculo de los animales sanos como estéril, hay evidencia de la presencia ocasional de bacterias aerobias y anaerobias, aunque en cuantía muy reducida. En

efecto, el número de microorganismos en la masa muscular profunda de la canal de animales sanos, es muy pequeña, de 0.1 a 100/gr. La contaminación tisular profunda puede ocurrir de tres formas:

#### **2.6.1.1. Invasión Ante mortem**

Ocurre a través de lesiones en el animal, principalmente a nivel de mucosas y puede ser contenida por los mecanismos inmunológicos del animal. (Oliveira, 2004)

#### **2.6.1.2. Invasión Agonal**

No hay evidencia de ocurrencia de la invasión agonal a través de penetración de bacterias de la luz del tracto gastro intestinal hacia la sangre en el momento de la muerte, en condiciones normales, pero los microorganismos pueden ir a la circulación sanguínea a través de instrumentos utilizados en el aturdimiento como la pistola del perno cautivo y en la sangría. (Oliveira, 2004). El perno de una pistola de percutor cautivo puede portar una carga bacteriana de  $4 \times 10^5$  ufc/cm<sup>2</sup> de superficie metálica. (Lawrie, 1998); Makey en 1979, mostró que la pistola de perno cautivo, ropa y cuchillas de sangría contaminada con  $10^8$  a  $10^{11}$  ufc/cm<sup>2</sup>, promoverían la presencia de estos microorganismos en los tejidos internos. Bacterias del dardo cautivo fueron encontradas en el bazo más no en el músculo, de la ropa en bazo y en el músculo; y del cuchillo de la sangría en el corazón, pulmón, bazo, hígado y riñones, pero raramente en el músculo.

#### **2.6.1.3. Invasión Post mortem**

No hay evidencia de la invasión de microorganismos provenientes del tracto gastro intestinal en las primeras horas post mortem. La invasión post mortem es importante a nivel del matadero cuando por problemas mecánicos o eléctricos, la faena es interrumpida y el animal no es desollado ni eviscerado después de la sangría. (Koneman, 1970). Aunque Gill, 1976, trabajando con canales de ovinos sacrificados, no eviscerados y mantenidos a 20° C por 24 horas, observó que las



muestras de músculo y linfonódulos removidos asépticamente no presentaron crecimiento de microorganismos en agar nutriente. Concluyéndose que la práctica de condenación de canales por atraso de evisceración debe ser mejor estudiada.

### **2.6.2. MICROORGANISMOS DE LA PIEL**

Durante el crecimiento y desenvolvimiento de los bovinos, la piel adquiere grandes poblaciones de microorganismos; esta población incluye los microorganismos normales de la piel y los adquiridos del suelo, agua, pasto y heces. (Whitehead, 2000). Entre los muchos géneros de microorganismos, los psicotrofos son provenientes del suelo y del agua; *Pseudomonas* del agua y *Brochotrix thermosphacta* del suelo y heces.

La población microbiana de la piel de los animales en el momento del sacrificio, depende de una serie de factores como local de producción, método de transporte y condiciones de estabulación en el matadero. El régimen de crianza también afecta la contaminación de la piel.; en el régimen de crianza extensiva, los animales pueden presentar menos bacterias fecales y más microorganismos del ambiente en que están estabulados. (Oliveira, 2004).

### **2.6.3. MICROORGANISMOS DEL TRACTO GASTRO INTESTINAL**

El tracto gastrointestinal es otra fuente de microorganismos por ello la evisceración debe ser conducida cuidadosamente con el objetivo de minimizar la contaminación de las canales, evitándose hacer perforaciones en éste; además debe ser realizada dentro de los primeros 30 minutos posteriores al sacrificio y se debe anudar el esófago y el recto. (Bermejo, 2000; Quiroga, 2000). En el momento del sacrificio, el rumen puede contener 6.0 a 8.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> de aerobios mesófilos. Las heces pueden contener 7.0 a 9.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> de aerobios mesófilos. (Oliveira, 2004).

Fotografía N° 4: Lavado.



Fotografía N° 5: Oreo.



Fotografía N° 6: Colocación del marco estéril en Cuello.



#### **2.6.4. MICROORGANISMOS DEL AIRE ATMOSFÉRICO.**

Una de las fuentes potenciales de contaminación microbiana que también han recibido poca atención de la industria de la carne es el aire atmosférico. Después de la remoción de la piel las canales están sujetas a este tipo de contaminación, debido a la deposición en su superficie de microorganismos a partir de la atmósfera de la sala de matanza. El contacto de la carne con el aire atmosférico continúa en las etapas subsiguientes como oreo, almacenamiento, elaboración de derivados y comercialización. (Lawrie, 1998). En países en los cuales se practica un adecuado control del aire circulante la contaminación bacteriana superficial de la carne resulta irrelevante. (Jay, 2002). (Fotografía N°: 4, 5)

La calidad del aire atmosférico depende principalmente del control higiénico del establecimiento, de la limpieza y de las posibilidades de su buena realización, considerando que pisos, paredes, equipos, utensilios, almacenamiento, sistemas de ventilación y drenaje son fuentes potenciales de contaminación del aire atmosférico. Con relación a la población microbiana del aire, puede ocurrir una variación significativa de ésta en un pequeño intervalo de tiempo en el mismo local y dentro del mismo establecimiento; entre los principales grupos de microorganismos presentes en el aire atmosférico en el matadero se encuentran: Micrococos, Coliformes, Bacillus y Estafilococos. Por regla predomina *E. coli* en el aire atmosférico de corrales y sala de matanza, habiendo bajos conteos de este microorganismo en las cámaras de refrigeración, ocurre lo inverso con *Pseudomonas*. (Oliveira, 2004).

#### **2.6.5. CONTAMINACIÓN DE LA CANAL DURANTE LAS OPERACIONES DE FAENA.**

##### **2.6.5.1. CONTAMINACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LA CANAL**

La superficie de la canal es contaminada principalmente por la piel; las primeras incisiones en la piel para comenzar el desuello son realizadas con un cuchillo, que contamina la superficie de la canal; cuchillas esterilizadas usadas para la incisión y

separación de la piel pueden adquirir en toda la lámina, en torno a 7.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> de aerobios mesófilos. Otras contaminaciones en esta fase del trabajo son provenientes del contacto de la superficie de la canal con la piel ya separada o con las manos del operario. La variación de los recuentos bacterianos a lo largo de la línea de faena depende de la adhesión o fijación de microorganismos en la superficie de la canal, que puede ser dividida en tres fases: adsorción del microorganismo en la superficie debido a las fuerzas de Vander Walls, consolidación del microorganismo en la superficie, colonización y distribución de los microorganismos en la superficie, varios factores afectan la adhesión o adherencia de las bacterias a la superficie de la canal, principalmente la temperatura ambiental, sustratos presentes en la carne, PH y capacidad de retención de agua.

#### **2.6.6. CONTAMINACIÓN DE LA CANAL DESPUÉS DE LAS OPERACIONES DE FAENA.**

Después del término de las operaciones de faena, las canales bovinas pueden presentar un recuento de 3.0 a 5.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> de aerobios mesofilos. Los recuentos microbianos de la canal antes del enfriamiento y después de este periodo presentan pocas variaciones. (Nottingham y Nyborn), después (Nottingham, 1982), observaron un recuento medio de mesofilos a 37° C antes de la refrigeración de 2.3 Log ufc/cm<sup>2</sup> y un recuento medio de 2.5 Log ufc/cm<sup>2</sup> después de 48 horas de refrigeración a 7° C. Durante el proceso de refrigeración de la canal, pueden ocurrir variaciones del tipo de microorganismo contaminante.

Hay predominancia inicial de bacterias mesofilas, invirtiéndose para psicotróficas durante el almacenamiento y refrigeración. Las canales en el comercio pueden ser clasificadas en cuanto al aspecto higiénico sanitario, según Nortjé et al; 1989, un recuento de 3.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> puede ser considerado como indicativo de una buena higiene y una eficiente operación comercial.

## **2.7. RECuentos MICROBIANOS OBTENIDOS EN ESTUDIOS ANTERIORES.**

Nortje en 1981, utilizando la técnica de la salchicha artificial observó que los recuentos obtenidos a lo largo de la línea de faena en bovinos obedecían a la siguiente secuencia: después de la sangría, los recuentos totales eran de 2.9 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después del desollado: 2.6 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después del lavado con agua fría eran altas: 2.9 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después de la refrigeración por 24 horas eran 2.3 Log ufc/cm<sup>2</sup>. (Kriiaa, 1985). Jardim en 2004, por el método no destructivo de hisopado para canales bovinas, encontró después de la sangría (cuero): 3.72 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después del desuello: 1.79 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después del lavado 2.09 Log ufc/cm<sup>2</sup>. Asimismo, Phillips, en 2001, en canales bovinas utilizando el método de la esponja para Bacterias Aerobias Mesofilas totales; encontró una media de 2.42 Log ufc/cm<sup>2</sup>.

Godínez y colaboradores en 2003, muestrearon mediante frotado con gasa en canales bovinas: el promedio fue de 4.5 Log ufc/cm<sup>2</sup>. Fernández.-Gines en 2004; comparó el método destructivo con el método no destructivo de hisopado para el recuento total de colonias aerobias, en superficie de canales bovinas, encontrando diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre ambas técnicas de muestreo, siendo las medias, para el método destructivo y el método del hisopado: de 4.57 y 3.71 Log ufc/cm<sup>2</sup>, respectivamente.

## **2.8. LIMITES MICROBIOLOGICOS EN CANALES BOVINAS.**

Los requisitos microbiológicos de canales bovinas para el Recuento de Bacterias Aerobios Mesófilos Totales debe ser  $< 10^6$  ufc/ml, para Salmonella debe haber ausencia en 25 gr., para *Escherichia coli* debe ser  $< 10^2$  ufc/g., numeración de Bacterias Psicrófilas debe ser  $< 10^5$  NMP/g; para el recuento de Coliformes Totales debe ser  $< 10^2$  ufc/g., para numeración de *Staphilococcus aureus* debe ser  $< 10^2$  ufc/g. (NTP 201.055, 2003; NTP ISO 2283,1998). Asimismo el límite microbiológico para carne cruda de bovino: Aerobios mesófilos Totales es de  $10^5 - 10^7$  ufc/ml. (DIGESA, 2003). Para canales antes de refrigerarse el límite

es de  $10^6$  ufc/ml., ya que una carne con un recuento superior a  $10^7$  ufc/ml., ha sufrido una contaminación considerable, ha estado expuesta a unas condiciones que han permitido la multiplicación de la flora presente inicialmente hasta unas tasas próximas a las que ya mostrarían evidencias de una incipiente alteración. Inmediatamente después del sacrificio, está justificada una tasa de  $10^6$  ufc/ml porque recuentos por debajo de esa cantidad se consiguen con facilidad si se han seguido las Buenas Prácticas de Manufactura. (ICMSF, 1999)

La Comisión Europea (C.O.C.E, 2001, Decisión 471/2001/CE), el Servicio de Inspección y Protección de Alimentos (FSIS/USA) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos; el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) de Argentina en sus normas para el muestreo microbiológico de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en canales bovinas, para muestras tomadas por el método destructivo. Establecen tres categorías, (visualizadas como áreas) para la verificación del control del proceso: Aceptable, Dudosa e Inaceptable. Consideran como: Valores Aceptables, los  $< a 3.5 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Dudosos, los  $> a 3.5 \text{ Log ufc/cm}^2$  pero  $< a 5.0 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Inaceptables, los  $> a 5.0 \text{ Log ufc/cm}^2$ . El Servicio Agrario Ganadero (SAG) de Chile, para el mismo fin, considera los mismos valores, para muestras tomadas por ambos métodos: el método destructivo y por el método no destructivo (esponja). Como se aprecia en el Gráfico N°: 1 y en la Tabla N°: 1.

La transposición Inglesa de la Decisión 471/2001 (Secretary of State for Health, 2002), establece valores aceptables, dudosos e inaceptables para muestras tomadas mediante el método no destructivo (torundas o hisopos de algodón) Establecen tres categorías, (visualizadas como áreas) para la verificación del control del proceso: Aceptable, Dudosa e Inaceptable. Consideran como: Valores Aceptables, los  $< a 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Dudosos, los  $> a 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$  pero  $< a 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Inaceptables, los  $> a 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ . Como se aprecia en la Tabla N°: 2.

Los criterios microbiológicos para el método de hisopado en canales bovinas para el recuento de bacterias Aerobias mesofilas totales considerados en el Camal

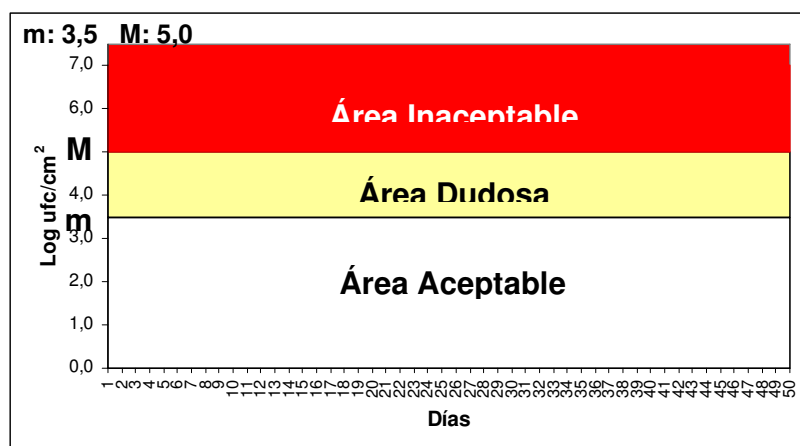
en el cual se desarrolló el estudio: Camal Frigorífico José Olaya, están basados en sus estudios internos, son los siguientes: Valores aceptables, los  $< 3.0 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores dudosos, los  $> 3.0$  y  $< 3.4$  y Valores inaceptables los  $> 3.4 \text{ Log ufc/cm}^2$ . (Ergoavil, Comunicación Personal).

Los métodos utilizados para el muestreo: destructivo y el no destructivo o hisopado, ambos tienen sus ventajas e inconvenientes: en el método destructivo predomina la sencillez y la rapidez de la técnica, aunque desde el punto de vista económico no es deseable la eliminación de laminas superficiales de la canal; en cuanto al método del hisopado, se suman una serie de factores como el uso de la plantilla de  $100 \text{ cm}^2$ , de los hisopos y mayor tiempo de muestreo. Los métodos de muestreo destructivos dan resultados superiores a los obtenidos por hisopado, lo cual ha sido demostrado en otros estudios. (Palumbo et al., 1999).

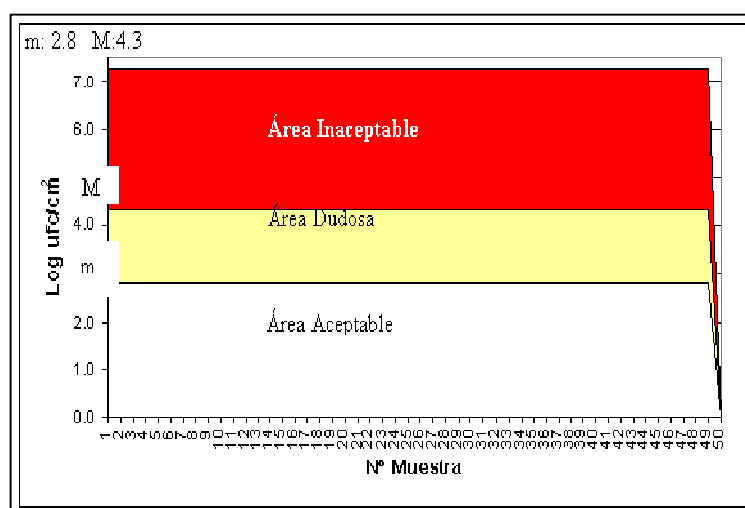
La técnica de hisopado recoge una proporción de la flora total presente en la superficie de la canal, con frecuencia del 20%. (C.O.D.E, 2001; FSIS/USA, 2001; SENASA/Argentina, 2004; SAG/Chile, 2001). Así también en estudios realizados por el método del hisopado en diferentes especies, se obtiene el 20% de la flora total. (Bell, 1997; Palumbo, 1999; Moreno, 2002). Esto se debe a que el método destructivo recoge aquellos microorganismos débil y fuertemente adheridos a la superficie de la canal, mientras el hisopado recoge únicamente aquellos microorganismos que están débilmente adheridos como cita Yu et al en 2001.

Según la legislación vigente (C.O.C.E, 2001), los métodos utilizados para el muestreo pueden ser tanto el método destructivo como el método de hisopado; y recomienda que cuando se empleen métodos distintos del destructivo, se establezca para el método aplicado, los criterios de contaminación bacteriana de modo que pueda cotejarse con el método destructivo. (Moreno en 2002).

**GRAFICO 1. Limites Microbiológicos para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en Canales Bovinas según la Legislación vigente por el método destructivo. (C.O.C.E, 2001; FSIS/USA, 2001; SENASA/Argentina, 2004; SAG/Chile, 2001).**



**GRAFICO 2. Limites Microbiológicos para Bacterias Aerobias Mesofilas Totales. Transposición Inglesa de la Decisión 471/2001 (Secretary of State for Health, 2002)**





**TABLA N° 1: Límites aceptables, dudosos e inaceptables de contaminación  
(expresados en ufc/cm<sup>2</sup>) muestras tomadas mediante el método destructivo. (C.O.C.E,  
2001)**

Parámetro	Valores aceptables		Valores dudosos (> <b>m</b> pero ≤ <b>M</b> )	Valores Inaceptables (> <b>M</b> )
	Bovinos/ Ovinos/ caprinos/ Equinos	Porcinos	Bovinos/porcinos/ Ovinos/caprinos/ Equinos	Bovinos/porcinos/ Ovinos/caprinos/ Equinos
Recuento Total de Colonias Aerobias	< 3.5 log	<4.0 log	<3.5 log (porcinos: <4.0 log)- 5.0 log	>5.0 log
Enterobacterias	<1.5 log	<2.0 log	1.5 log (porcinos:2.0 log)- 2.5 log (porcinos: 3.0 log)	>2.5 log (porcinos:>3.0 log)

**TABLA N° 2: Límites aceptables, dudosos e inaceptables de contaminación  
(expresados en ufc/cm<sup>2</sup>) muestras tomadas mediante el método no destructivo:  
hisopado o torundas de algodón. Transposición Inglesa de la Decisión 471/2001/CE.  
(Secretary of State for Health, 2002)**

Parámetro	Valores aceptables		Valores dudosos (> <b>m</b> pero ≤ <b>M</b> )	Valores Inaceptables (> <b>M</b> )
	Bovinos/ Ovinos/ caprinos/ Equinos	Porcinos	Bovinos/porcinos/ Ovinos/caprinos/ Equinos	Bovinos/porcinos/ Ovinos/caprinos/ Equinos
Recuento Total de Colonias Aerobias	< 2.8 log	<3.3 log	<2.8 log (porcinos: <3.3 log)- a 4.3 log	>4.3 log
Enterobacterias	<0.8 log	<1.3 log	0.8 log (porcinos:1.3 log)- 1.8 log (porcinos: 2.3 log)	>1.8 log (porcinos:>2.3 log)

## **2.9. MÉTODOS PARA LA NUMERACIÓN O RECuento DE MICROORGANISMOS EN LA CARNE.**

Los cuatro métodos básicos empleados para cuantificar la presencia de los microorganismos en la carne son los siguientes: Recuentos en placas, Método del Número Más Probable, Técnica de Reducción de Colorante, Recuento Microscópico Directo. En los Recuentos convencionales en placas, se mezclan y homogenizan porciones de muestras, se diluyen seriadamente, en un diluyente apropiado, se siembran en el espesor del medio que contiene la placa y éstas se incuban a una temperatura apropiada, durante un tiempo dado, transcurrido el cual se cuentan todas las colonias visibles. Este es el método más usado universalmente para determinar los números de células viables o de unidades formadoras de colonias en los productos alimenticios. Es el método de elección cuando las características de una colonia son importantes para su identificación selectiva; pero tiene el inconveniente de que cuando la superficie del agar no está lo suficientemente seca antes de sembrar la placa tiene lugar una superposición de colonias, lo que hace que resulte difícil su enumeración. (Jay, 2000).

En el método del agar salchicha, una jeringa de 100 ml se modifica para eliminar el extremo donde se acopla la aguja con el fin de crear un cilindro hueco que se llena de agar; por medio del émbolo, se impulsa una capa de agar más allá del borde del cuerpo de la jeringa y se presiona contra la superficie a examinar, se separa la capa de agar expuesta y se coloca en una placa petri luego se incuba y se cuenta las colonias; este método está limitado a aquellos casos en que el número de microorganismos contaminantes sea escaso. (Jay, 2000). En el método de la torunda (hisopado) y el arrastre por esponja, se preparan plantillas con aberturas que se correspondan con la extensión de la superficie, se restrega la zona expuesta con una torunda o esponja humedecida, éstas se introducen de nuevo en un envase que contiene un diluyente apropiado y se guardan a temperaturas de refrigeración hasta que se realice la siembra en placa; este método es más apropiado para superficies flexibles, irregulares y contaminadas. (Jay, 2000).

El método denominado Petrifilm, utiliza tiras de plástico secas, en el que 2 tiras de plástico se unen entre si por un solo lado y se recubren con los ingredientes de los medios de cultivo y un agente gelificante soluble en agua fría; el método se puede usar con ingredientes no selectivos para efectuar recuentos de bacterias aerobias en placa, mientras que con ingredientes selectivos se pueden detectar algunos grupos bacterianos específicos; es una alternativa aceptable a los métodos convencionales de recuento en placa. Las Placas Petrifilm Recuento de Aerobios Mesofilos Totales ® constituyen un sistema listo para usar que contiene además un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias. (Amer, L., De Bautista, G. 2000).

Existen numerosos estudios que demuestran la validez y eficacia de las placas petrifilm ® para el análisis microbiológico de los alimentos (Ginn et al, 1984; Nelson et al, 1984; Smith et al, 1985; Curiale et al 1990) incluyendo carne y productos cárnicos (Wilkins et al, 1996; Linton et al, 1997). Las placas Petrifilm para Recuento de aerobios mesofilos totales® tienen certificaciones de calidad por Asociación Oficial de Análisis de Alimentos (AOAC 991.14), Asociación Francesa de Normalización (AFNOR CERT. N° 3M 01/1-09/89), Metodologías Oficiales del Gobierno Canadiense (MFHPB-33/), Comité Nórdico de Análisis de Alimentos (NMKL 147.1993), USA-FSIS: Pathogen HACCP Final Rule. (Wallace, 1995 a; Wallace, 1995 b). Se eligió esta técnica por su sencillez, eliminación de la preparación de los medios de cultivo, mejor visualización de las colonias en menor tiempo y costo.

## **2.10. TÉCNICAS PARA MEJORAR LA CALIDAD HIGIÉNICA DE LA CARNE.**

En los sistemas convencionales de conservación de las canales, se ha utilizado la refrigeración a temperaturas de -2 a 0°C y humedad relativa del 90 %, pero los costos de refrigeración han ido en aumento y tampoco ha sido la solución definitiva para evitar la contaminación de la carne. (Feldman, 2003; Bavera, 1998). El uso de soluciones antisépticas es una manera fácil y económica de disminuir la carga bacteriana de las canales y disminuir el tiempo de refrigeración,

consiste en aplicar soluciones antisépticas a las canales en la misma línea de faenado. Actualmente se esta implementando en la misma línea de faenado sistemas de pasteurización por medio de vapor que se aplica sobre la superficie antes de ser llevadas a los cuartos de refrigeración. (Rodriguez, 2000; Herrera, 1992).

En la descontaminación de las carcasas se utiliza los ácidos orgánicos; y/o agua caliente es cada vez más aplicada como intervenciones secuenciales para la descontaminación de la carne (Stopforth et al, 2003). Estos sistemas que evitan la contaminación de las canales disminuyen la urgencia de su almacenamiento en cuartos fríos con lo cual se puede mantener a medio ambiente por un tiempo más prolongado facilitando la acción temprana de las enzimas proteolíticas; esto reduce el tiempo de refrigeración y mejora la ternura de la carne. El empaque al vacío consiste en la utilización de bolsas contráctiles a las que después de empacada la carne se extrae el aire con maquinas de hacer vacío, luego se cierran mediante el calor y se contraen en recipientes de agua a temperaturas entre 80 a 90 °C por un tiempo de 1 a 2 segundos. Se realiza transcurrida la fase de rigor mortis (24 horas en bovinos): generalmente se empacan los cortes de mejor calidad: lomos, cadera y pierna los que se almacenan en cuartos de refrigeración para ser madurados hasta por seis semanas. (López., J., 2000)

La estimulación eléctrica consiste en la aplicación de una corriente de más o menos 600 voltios por 15 segundos a las canales de carne, 45 a 60 minutos después del sacrificio y en la misma línea de faenado; este impulso de alta intensidad, provoca una reacción en cadena traducida por una glucólisis acelerada que permite el agotamiento temprano del ATP por lo cual se instaura el rigor mortis enseguida, esto favorece el descenso rápido del PH muscular controlando el crecimiento microbiano. (Sánchez, G. L., 2000).

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. LUGAR DE ESTUDIO.**

El trabajo se realizó en el Camal Frigorífico José Olaya SAC., ubicado en el Kilómetro 18.5 de la Panamericana Sur, distrito de Chorrillos, Lima Metropolitana, en el departamento de Lima. Entre los meses de octubre y noviembre del 2004

#### **3.2. ANIMALES.**

Se utilizaron animales bovinos, procedentes de centros de engorde, cuyas edades fluctuaban entre 15 a 30 meses de edad. Todas las canales fueron inspeccionadas y aprobadas por el inspector Veterinario.

#### **3.3. PROCEDIMIENTOS GENERALES DE SACRIFICIO.**

El sacrificio se llevó a cabo de acuerdo al sistema normal y convencional de faenado, el cual incluye aturdimiento, degüello, desollado, eviscerado, hendido, retoque y lavado final antes del oreo.

### **3.4. MATERIALES Y EQUIPOS.**

#### **3.4.1. EN LA TOMA DE MUESTRAS.**

- Guantes.
- Recipiente isotérmico (Cooler).
- Hisopos de algodón, secos y húmedos (Anexo N°: 1).
- Bolsas estériles.
- Marcos estériles. (Anexo N°: 2).
- Agua destilada.
- Diluyente para diluciones: Solución de peptona 0.1% y cloruro de sodio al 0.85%.

#### **3.4.2. EN EL LABORATORIO.**

- Autoclave.
- Estufa de Incubación.
- Refrigerador.
- Placas Petrifilm Recuento Aerobios Mesófilos ®.
- Pipetas Bacteriológicas de 1ml y 5 ml.
- Solución de peptona 0.1% y cloruro de sodio 0.9%.

### **3.5. TAMAÑO DE LA MUESTRA POBLACIONAL.**

Como el Teorema del Límite Central afirma que la precisión de la muestra mejora al crecer  $n$  (tamaño muestral), y en el caso de valores grandes de  $N$  (población), viene a ser igual o mayor a 30. (Spiegel, 1991), se decidió establecer 30 animales como tamaño de la muestra.

### **3.6. CARACTERISTICAS DEL MUESTREO CÁRNICO.**

El muestreo para cultivo microbiano en el presente estudio fue tomado mediante hisopado de la superficie externa de cada canal de la muestra.

#### **3.6.1. LUGARES DE MUESTREO.**

Se muestreó la superficie externa de cada uno de las siguientes áreas:

<b>Área N° 1:</b>	CADERA
<b>Área N° 2:</b>	FALDA
<b>Área N° 3:</b>	PECHO
<b>Área N° 4:</b>	CUELLO

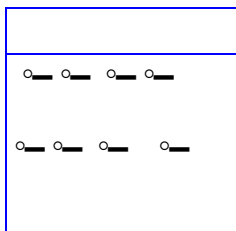
### **3.6.2. TOMA DE MUESTRA.**

La toma de muestra se realizó durante el oreo y antes de la conservación en frío y a una temperatura ambiental de 18 °C, un día por semana, en días alternos durante 4 semanas. Se utilizó el Método no Destructivo de hisopado, como se describe a continuación: se realizó el hisopado de la superficie externa de las siguientes regiones de la canal: cuello, pecho, falda y cadera. (Anexo N°: 1). En cada una de las regiones, el área hisopada fué de 100 cm<sup>2</sup>. Dicha área fué delimitada con un marco estéril de 10 cm. X 10 cm. (Anexo N°: 2). (Fotografías N°: 6, 7, 8 y 9).

Se utilizaron dos hisopos de algodón estériles para la toma de muestra de cada área. El primer hisopo fué humedecido en la solución de peptona 0.1% y cloruro de sodio 0.85%, durante 5 segundos, (diluyente recomendado por la NTP ISO 3100-2). Luego de escurrirlo, se frotó el área de muestreo en varios sentidos: vertical, horizontal y diagonal, durante 20 segundos para concluir rompiendo la cabeza del hisopo en el interior de una bolsa de polietileno estéril. (Fotografía N°: 10). Luego la misma área se frotó con un segundo hisopo seco, el cual se rompió también en la bolsa de polietileno. Una vez que las muestras fueron tomadas en el Camal, se transportaron al Laboratorio del mismo. Se utilizó un total de 8 hisopos por canal: 4 húmedos y 4 secos; todos se colocaron en la bolsa estéril y se agregó 100 ml del diluyente (solución acuosa de peptona 0.1 % y cloruro de sodio 0.9 %) y se homogenizó durante 2 minutos (ICSMF, 1999), quedando así constituida la dilución primaria. (Grafico N°: 3).

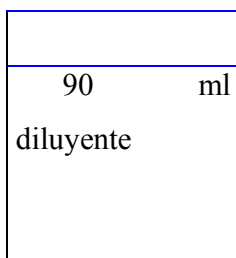
### GRAFICO N° 3. Preparación de las Diluciones a partir de la Dilución primaria

**Dilución Primaria:** 100 ml de diluyente + la muestra (8 hisopos)



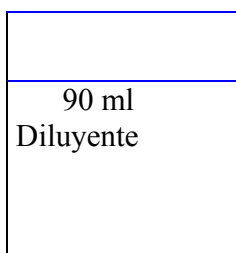
↓ **10 ml** (se extrae 10 ml y se lleva a la siguiente bolsa)

**Primera Dilución:**  $10^{-2}$



↓ **10 ml** (se extrae 10 ml y se lleva a la siguiente bolsa)

**Segunda Dilución:**  $10^{-3}$





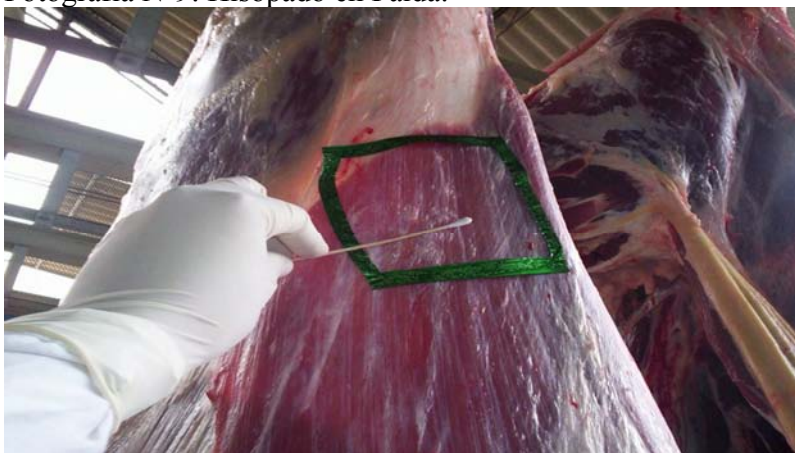
Fotografía N°7: Hisopado en Pecho.



Fotografía N°8: Hisopado en Cadera.



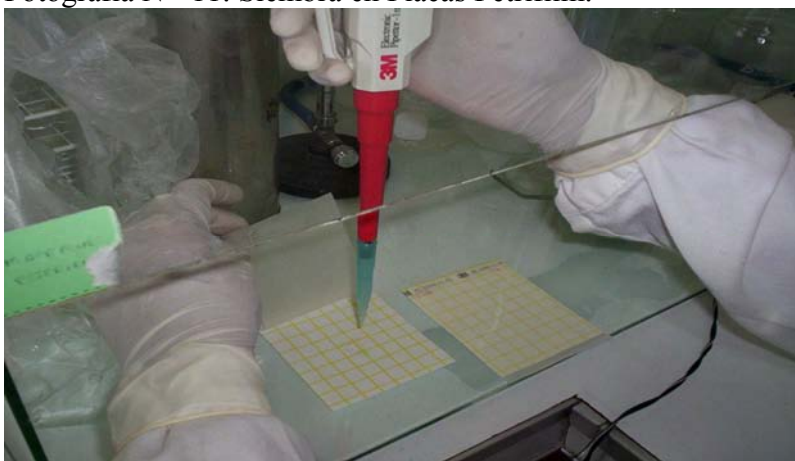
Fotografía N°9: Hisopado en Falda.



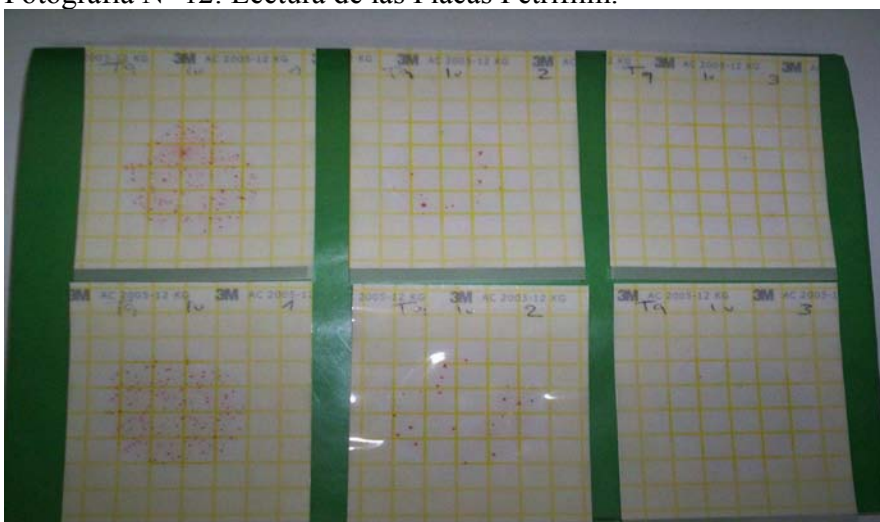
Fotografía N° 10: Recolección de las muestras.



Fotografía N° 11: Siembra en Placas Petrifilm.



Fotografía N° 12: Lectura de las Placas Petrifilm.



### 3.7. PREPARACION DE LA MUESTRA Y CULTIVO MICROBIANO.

A partir de la dilución primaria se prepararon otras diluciones decimales ( $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ). Luego se inoculó 1 ml, de cada dilución a dos Placas Petrifilm Recuento de Aerobios Mesofilos Totales ®. (Fotografía N°: 11). Luego se incubaron las Placas Petrifilm durante 48 horas + 3 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  en una estufa de incubación. Para comprobar la constancia y uniformidad de la temperatura interior en la estufa se realizaron mediciones de la temperatura a las 4 (A) y 24 horas (B) post siembra, utilizando termómetros adecuados (Anexo N°: 5).

Para controlar la esterilidad del diluyente, se sembró éste en la placa Petrifilm. Transcurrido el periodo de incubación, el número de colonias presentes en estas placas resultó no mayor de una unidad. Transcurridas las 48 horas de incubación se hizo el conteo de las colonias. Se contó todas las colonias rojas, independientemente de su tamaño o intensidad de color, en las dos placas de cada dilución (Primera Dilución o  $10^{-2}$  y Segunda Dilución ó  $10^{-3}$ ). (Fotografía N°: 12)

### 3.8. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS.

#### 3.8.1. Cálculo del número de microorganismos /ml o número de colonias por ml.

En cada dilución, el cálculo de los resultados (numero de microorganismos/ml), se determinó aplicando la formula indicada en la norma ISO 22:93:1998, como sigue:

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1 \times n_2) d}$$

N = Número de microorganismos por mililitro.

$\sum c$ =Es la suma de colonias contadas en todas las placas de todas las diluciones.

$N_1$ =Es el numero de placas sembrada con la primera dilución.

$n_2$ =Es el numero de placas sembradas con la segunda dilución

d =Es el factor de dilución correspondiente a la primera dilución.

### **3.8.2. Cálculo del número de microorganismos por cada canal investigada.**

Para calcular el número de microorganismos por canal se utilizó la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{N}^\circ \text{ ufc/ml} \times 100 \text{ (ml de diluyente)} / 400 \text{ cm}^2 \text{ de superficie hisopada} = \\ & = \text{N}^\circ \text{ ufc} / 4 \text{ cm}^2 = \text{N}^\circ \text{ ufc/cm}^2. \end{aligned}$$

### **3.8.3. Expresión de los Resultados.**

Para expresar los resultados, debido a que los recuentos bacterianos se caracterizan por presentar una distribución asimétrica y que uno de los modelos de distribución que describen las formas asimétricas es la distribución logarítmica, el número de microorganismos hallado, en cada caso, fue transformado a su Logaritmo (Log). En este nuevo modelo basado en los logaritmos, los valores siguen una distribución normal y podrán ser tratados como tales, facilitando su contrastación (SENASA, 2003; Mcallister et al, 1988; Marner et al 1990; Guthrie et al, 1994; Tesse et al, 2000).

## **4. Análisis de datos.**

Los datos obtenidos fueron evaluados individualmente, contrastándolos con los siguientes criterios de contaminación: Valores Aceptables,  $< 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Dudosos,  $> 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$  pero  $< 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Inaceptables, los  $> 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ , (Transposición Inglesa de la Decisión 471/2001/CE para muestras tomadas por el método no destructivo de hisopado). Estos datos también fueron contrastados con el límite microbiológico para Canales bovinas para el Recuento de Aerobios Mesofilos Totales aprobados por la Norma Técnica Peruana (NTP 201.055, 2003) y por la Comisión Internacional Microbiológica para Alimentos (ICSMF), que ambos señalan como Límite Aceptable: los  $< 10^6 \text{ ufc/ml}$ .

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

El numero de colonias contadas para cada una de las diluciones: Primera ( $10^{-2}$ ) y Segunda ( $10^{-3}$ ), en cada caso, se presentan en el Cuadro N°: 1. Los rangos varían de 0 a 900 y de 0 a 246 colonias, para cada dilución respectivamente. El cálculo del número de microorganismos/ml para cada una de las muestras, se presenta en el Cuadro N°: 2. Los valores varían de 364 a 99091 microorganismos/ml. El Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en ufc/cm<sup>2</sup> se presentan en el Cuadro 3. Los resultados varían de 91 a 24773 ufc/cm<sup>2</sup>. Finalmente los resultados sobre el número de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en Log ufc/cm<sup>2</sup> se presentan en el Cuadro N°: 4, en él se aprecian valores que van desde 1.95 a 4.39 Log ufc/cm<sup>2</sup>, los que corresponden a las muestras No: 23 y No: 22 respectivamente; como se ve en el Grafico N°: 4. Siendo la media aritmética 3.04 Log ufc/cm<sup>2</sup>, la Desviación Estándar S: 0.55 y el Coeficiente de Variación CV: 18.58.

Estos resultados (Cuadro N°: 2) fueron contrastados con el límite microbiológico para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en Canales bovinas aprobados por la Norma Técnica Peruana (NTP 201.055 2003) y por la Comisión Internacional Microbiológica para Alimentos (ICSMF). Apreciándose que todas las muestras estuvieron dentro del Limite Aceptable. Cabe señalar que este limite de aceptabilidad aprobado por la Norma Técnica Peruana (aceptables: los  $< 10^6$  ufc/ml, corresponde a  $5.4 \text{ Log ufc/cm}^2$ ), el cual es demasiado benévolo a comparación de las normas internacionales actuales y que además en la NTP referida a la calidad higiénica de canales bovinas, no menciona métodos de muestreo, características del muestreo cárnico, cultivo microbiano, ni tampoco cálculo de los resultados recomendados o que se puedan relacionar a ese limite de aceptabilidad.

Conviene recordar que la técnica del hisopado recoge una proporción de la flora total presente en la superficie de la canal, con frecuencia del 20%. (C.O.C.E, 2001; FSIS/USA, 2001; SENASA/Argentina, 2004; SAG/Chile, 2001). Así también en estudios realizados por la técnica del hisopado en diferentes especies, se obtiene el 20% de la flora total. (Bell, 1997; Palumbo, 1999; Moreno, 2002). Lo cual se debería a que el método destructivo recoge aquellos microorganismos que están débil y fuertemente adheridos a la superficie de la canal, mientras el hisopado recoge únicamente aquellos microorganismos que están débilmente adheridos como cita Yu y colaboradores en el 2001. En el camal Camal frigorífico José Olaya, donde se realizó el presente estudio manejan sus propios criterios de aceptabilidad para el método del hisopado, basados en sus estudios internos y en la literatura actual, establecen las categorías: aceptables, las  $< 3.0 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; dudosas, los  $> 3.0$  y  $< 3.4$ ; e inaceptables, los  $> 3.4 \text{ Log ufc/cm}^2$ . (Ergoavil, Comunicación Personal).

Contrastando los resultados obtenidos en el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales con los límites definidos para el presente trabajo, se encontró que de las 30 muestras, el 43.33% de ellas, es decir 13 tuvieron valores aceptables  $< 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$ , el 53.3% de ellas, es decir 16 muestras tuvieron valores dudosos,  $> 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$  pero  $< 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$  y el 3.3% de ellas, es decir 1 muestra tuvo valor inaceptable,  $> 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ . (Grafico N°: 5). El Recuento de Aerobios Mesofilos indica el grado de

contaminación global en relación a la higiene del procesado de los animales. Las causas de los resultados dudosos e inaceptables se deben posiblemente a la falta de estandarización, malas prácticas de producción u obtención, análisis de procedimientos o instrucciones (inexistentes o insuficientes), los cuales no fueron motivo del presente estudio.

El promedio del Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales para canales bovinas obtenido en este estudio ( $3.04 \text{ Log ufc/cm}^2$ ), es mayor al promedio obtenido en los siguientes estudios: al de Nortje y Naude en Brasil, 1981 por la técnica de la salchicha artificial en que encontró un valor de  $2.9 \text{ Log ufc/cm}^2$ . Al de Jardim en Brasil en 2004, mediante el hisopado halló  $2.1 \text{ Log ufc/cm}^2$ , y al estudio de Phillips en 2001, en que evaluó la calidad de la carne bovina Australiana por el método de la esponja y halló una media de  $2.42 \text{ Log ufc/cm}^2$ . Asimismo el promedio obtenido en el presente estudio es menor a los promedios obtenidos por Fernández Gines y colaboradores en 2004 por el método de hisopado en un matadero Español en que obtuvieron una media de  $3.71 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; y de Godínez y colaboradores en rastros de Hidalgo (México) en 2003 por frotado con gasa, hallando una media de  $4.5 \text{ Log ufc/cm}^2$ .

Las diferencias obtenidas utilizando el método de hisopado deben ser debidas a la diferente forma de obtener las muestras. Por lo tanto la técnica de muestreo debe estar normalizada y debe llevarse a cabo siempre del mismo modo.

Dada la simplicidad, la técnica del hisopado es la que comúnmente se emplea en los trabajos de rutina, se debe cuidar el ángulo y la presión aplicados al hisopo; el material del que está confeccionado un dispositivo de muestreo, debe estudiarse con mucho cuidado pues también influiría en los resultados. En el frotado con trozos de algodón, aparentemente la acción manual ejercida sobre éstos, es mayor y más efectiva que la ejercida sobre un palillo. Quedaría abierta la posibilidad de analizar esta técnica.

**CUADRO N° 1: Número de colonias contadas para la Primera Dilución ( $10^{-2}$ ) y Segunda Dilución ( $10^{-3}$ ).**

M	Dil	N	M	Dil	N	M	Dil	N	M	Dil	N	M	Dil	N
M1	$10^{-2}$	19 16	M8	$10^{-3}$	4 1	M14	$10^{-2}$	30 30	M21	$10^{-3}$	18 100	M27	$10^{-2}$	58 50
	$10^{-3}$	5 3		$10^{-2}$	72 44		$10^{-3}$	3 8		$10^{-2}$	370 200		$10^{-3}$	61 45
M2	$10^{-2}$	21 20	M9	$10^{-3}$	7 10	M15	$10^{-2}$	13 14	M22	$10^{-3}$	149 135	M28	$10^{-2}$	12 17
	$10^{-3}$	5 3		$10^{-2}$	24 18		$10^{-3}$	1 1		$10^{-2}$	900 800		$10^{-3}$	4 1
M3	$10^{-2}$	55 58	M10	$10^{-3}$	2 2	M16	$10^{-2}$	51 46	M23	$10^{-3}$	234 246	M29	$10^{-2}$	123 120
	$10^{-3}$	14 9		$10^{-2}$	7 9		$10^{-3}$	8 2		$10^{-2}$	0 3		$10^{-3}$	25 30
M4	$10^{-2}$	9 6	M11	$10^{-3}$	5 3	M17	$10^{-2}$	29 18	M24	$10^{-3}$	3 2	M30	$10^{-2}$	115 110
	$10^{-3}$	0 0		$10^{-2}$	16 23		$10^{-3}$	3 4		$10^{-2}$	51 46		$10^{-3}$	11 10
M5	$10^{-2}$	14 10	M12	$10^{-3}$	3 2	M18	$10^{-2}$	5 4	M25	$10^{-3}$	8 2			
	$10^{-3}$	1 2		$10^{-2}$	70 71		$10^{-3}$	0 0		$10^{-2}$	44 32			
M6	$10^{-2}$	23 29	M13	$10^{-3}$	10 13	M19	$10^{-2}$	30 26	M26	$10^{-3}$	5 2			
	$10^{-3}$	7 2		$10^{-2}$	31 32		$10^{-3}$	27 27		$10^{-2}$	79 73			
M7	$10^{-2}$	9 9		$10^{-3}$	6 5	M20	$10^{-2}$	420		$10^{-3}$	7 3			

Donde: M: Número de Muestras.

Dil: Número de diluciones.

N: Número de microorganismos por ml.

**CUADRO N° 2. Cálculo del No de microorganismos /ml.**

N° M	ufc/ml	N° M	ufc/ml	N° M	ufc/ml	N° M	ufc/ml
M1	1955	M9	2091	M17	2455	M25	3773
M2	2227	M10	1091	M18	409	M26	7364
M3	6182	M11	2000	M19	5000	M27	9727
M4	682	M12	7455	M20	31409	M28	1545
M5	1227	M13	3364	M21	38818	M29	13545
M6	2773	M14	3227	M22	99090	M30	11182
M7	1045	M15	1318	M23	364		
M8	6045	M16	4864	M24	4864		

Donde: N° M: Número de Muestras.

Ufc/ml: unidades formadoras de colonias por ml.



**CUADRO N° 3. Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en ufc/cm<sup>2</sup>.**

N° M	ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	ufc/cm <sup>2</sup>
M1	489	M9	523	M17	614	M25	943
M2	557	M10	273	M18	102	M26	1841
M3	1545	M11	500	M19	1250	M27	2432
M4	170	M12	1864	M20	7852	M28	386
M5	307	M13	841	M21	9705	M29	336
M6	693	M14	807	M22	24773	M30	2795
M7	261	M15	329	M23	91		
M8	1511	M16	1216	M24	1216		

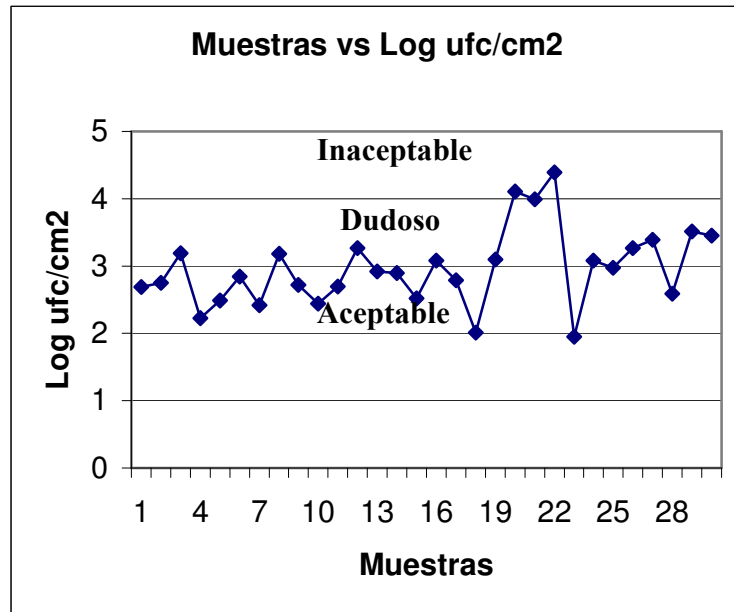
Donde: N° M: Número de Muestras.  
ufc/cm<sup>2</sup>: unidades formadoras de colonias por cm<sup>2</sup>.

**CUADRO N° 4: Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en Log de ufc/cm<sup>2</sup>.**

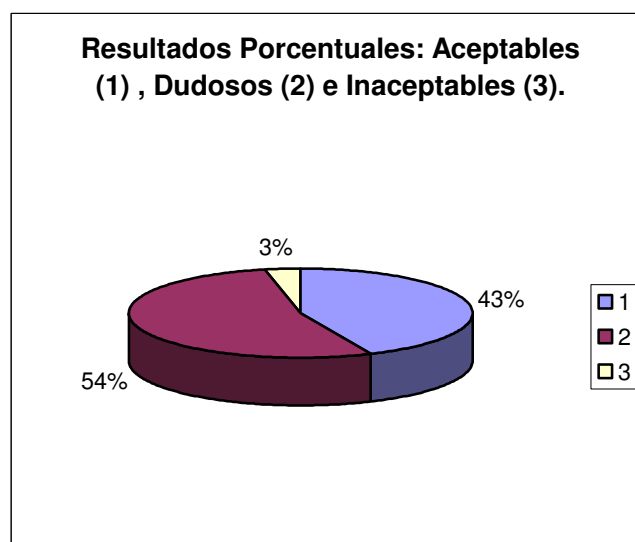
N° M	Log ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	Log ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	Log ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	Log ufc/cm <sup>2</sup>
M1	2.69	M9	2.72	M17	2.79	M25	2.97
M2	2.75	M10	2.44	M18	2.01	M26	3.27
M3	3.19	M11	2.70	M19	3.10	M27	3.39
M4	2.23	M12	3.27	M20	4.11	M28	2.59
M5	2.49	M13	2.92	M21	3.99	M29	3.51
M6	2.84	M14	2.90	M22	4.39	M30	3.45
M7	2.42	M15	2.52	M23	1.95		
M8	3.18	M16	3.08	M24	3.08		

Donde: N° M: Número de Muestras.  
Log. ufc/cm<sup>2</sup>: unidades formadoras de colonias por Log cm<sup>2</sup>.

**GRÁFICO N° 4: Expresión de los resultados en Log ufc/cm<sup>2</sup>.**



**GRAFICO 5: Resultados Porcentuales para Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en Canales Bovinas.**



## **V. CONCLUSIONES**

El promedio de los resultados obtenidos en el Recuento de Bacterias Aerobias mesofilas totales en canales bovinas fue de 3.04 Log ufc/cm<sup>2</sup>, valor que se encuentra dentro de los límites aceptables aprobado por la Norma Técnica Peruana y por la Comisión Internacional Microbiológica para Alimentos.

Contrastando los resultados obtenidos con los límites microbiológicos para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales por el método del hisopado definidos en el presente trabajo, se encontró que el 43.33 % de las muestras corresponderían a Valores Aceptables; el 53.30 % a Valores dudosos, el 3.3 % a Valores inaceptables.

## **V. RECOMENDACIONES**

Los camales deben poseer un programa de control microbiológico de procesos el cual debe tener un plan que incluya cuatro aspectos: el muestreo de superficie de equipos y utensilios que tienen contacto directo con el producto inmediatamente post aseo y desinfección, el control de manipuladores, la toma permanente de muestras de agua y productos.

Las Normas Técnicas Peruanas referidas a las características microbiológicas que deben tener las canales bovinas, deben reducir límite de aceptabilidad para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales teniendo presente normas, alcances internacionales así como el presente estudio.

La estandarización de los métodos de muestreo, con el objetivo de que sean comparables es necesaria para conseguir que los resultados obtenidos sean utilizados como herramienta.

## **VI. BIBLIOGRAFIA**

- 1. Amer. L., De Battista, G. Medvedeff, M., Bargardi, S. 2000.** Evaluation of Petrifilm method for total mesophyllic microorganismos count determination in vegetable drugs. *Ars Pharmaceutica*. 41: 383-386.
- 2. Apple, J.K.; Dikeman, M. E.; Minton, J. E.; McMurphy, R. M.; Fedde, M.R.; Leigh, D. E.; Unruh, J. A. 1995.** Effects of restrain and isolation stress an epidural blockade on endocrine an blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and indice of dark – cutting longissimus muscle of sheep. *Journal of animal science*.73:2295–2307.
- 3. Barteles. H. 1980.** Inspección Veterinaria de las carnes. 1ª Ed., p. 396- 402. Editorial Acribia. España.
- 4. Bell, R. G. 1997.** Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. *Journal of applied Microbiology, Oxford*. 82:292-300.
- 5. Belk K. E. 2001.** Asociación De los Cattlemen Nacionales. Descontaminación técnica de de la carne de vaca. Disponible en [WWW.carne de vaca.org](http://WWW.carne de vaca.org).

6. **Bermejo, A. 2000.** El matadero: centro de control higiénico de la carne. 1ª ed p 225-230. Editorial Ayala. Madrid.
7. **Borie, P. C., 1996.** Algunas Consideraciones sobre la Bacteria de la Carne. Laboratorio de Microbiología Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Tecnovet. 2:23-43. Chile.
8. **Bouton, P. E., Harris, P. V., Shorthose, W. R. 1971.** Effect of ultimate PH upon the water – holding capacity and tenderness of mutton. Journal of food science.36:435–439.
9. **Camacho, R. R.; Piernavieja, J.; Gonzáles, S.; Rojas, C. 1982.** Sacrificio y Mataderos de ganado. Ministerio de Agricultura. Instituto Colombiano Agropecuario. p.172-180. Colombia.
10. **Carballo, B.; Madrid, V.; López de la Torre. 2001.** Tecnología de la carne y de los productos cárnicos.1ª Edición. p. 98-108. AMV. Ediciones. España.
11. **Castillo, A; Dickson, J.S.; Clayton, R.P.; Lucia, L.M.; Acuff, G.R. 1998.** Chemical dehairing of bovine skin to reduce pathogenic bacteria and bacteria of fecal origin. Journal of Food Protection, Des Moines.61:623-625.
12. **Castro A. 2002.** Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos en Cuba. Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Sesión higiene de los alimentos. Memorias 18<sup>vo</sup>, 18-22 noviembre. La Habana. Cuba.
13. **Curiale, M. S.; Sons, T.; McAllister, B.; Halsey, B.; G. Fox, T.L. 1990.** Dry rehydratable film for enumeration of total aerobic bacteria in foods: Collaborative study. Journal of Association Anal Chem. 73:242-248.
14. **DIGESA. 2003.** Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de consumo Humano. Diario El peruano: Normas legales. Lima.
15. **D.O.D.E. 2001.** Decisión de la Comisión del 8 de junio de 2001 por la que se establecen Normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos. Diario oficial de las Comunidades Europeas. N° L165:48-53.
16. **Ergoavil, E. 2005.** Comunicación personal. Departamento de Aseguramiento de Calidad en planta de faena en Camal Frigorífico José Olaya. Lima.

17. **Fehlhaber, K. F. 1995.** Higiene Veterinaria de los Alimentos. 2da Ed. p.229–233. Editorial Acribia. España.
18. **Feldman, P. 2003.** La Llave Sanitaria: Buenas Prácticas de Manufactura. Área de capacitación del programa de calidad de los alimentos de la Dirección Nacional de Alimentación. Revista Americar. Córdoba 5: 40-45.
19. **Fernández, J. A.; Quiñónez, J. 2003.** Diseño del Sistema HACCP para el proceso de producción de carne bovina para consumo. Revista Colombiana Ciencias Pecuarias. Colombia 16: 1-47.
20. **Fernandez-Gines, J.M.; Saez-Plana, F.; Fernandez-López, J.; Sayas-Barbera, M.E.; Sendra, E. ; Pérez-Alvarez, J.A. 2004.-** Aplicación de la Microbiología rápida como alternativa al muestreo bacteriológico en matadero: evaluación sobre canales de porcino. En Eurocarne. España 123:10-15.
21. **Forrest, J. 1979.** Fundamentos de la ciencia de la carne. 4ta ed. p.125–127. Editorial Acribia. España.
22. **Gallo, Carmen. 1980.** Manejo y Faenamiento en animales de Abasto. Conferencia presentada en el Seminario de la Carne. (SNA- FISA). Santiago de Chile.
23. **USA-FSIS. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos - Servicio de Inspección y Protección de alimentos. 2001.** Manual de Reducción de Patógenos. Comisión 2001/471/CE.
24. **Gill, C. O. 1976.** Substrate limitation of Bacterial growth at meta surfaces. J. Appl. Bacteriol., London. 41: 401-410.
25. **Gill, C. O., Penney. 1977.** Penetration of bacteria into mest. Appl. Environ. Microbiol., Washington 37:1284-1286.
26. **Gill, C. O., Penney, N. 1982.** Bacterial penetration of muscle tissue. J. Food Sci. Chicago 42:690-692.
27. **Gill, C. O., Leet, N. G., Penney, N. 1984.** Structural changes developing with rigor that facilitate bacterial invasión of muscle tissue. Meat Sci., Barking 10: 265- 274.
28. **Ginn, R. E.; Packard, V.S.; Fox, T.L. 1984.** Evaluation of the 3M dry medium culture plate (Petrifilm) method for determinig numbers of bacteria in raw milk. Journal of Protecction.47: 75 -87.

- 29. Godínez G., Reyes J.A., Zúñiga A., Sánchez I., Castro, J., Román A.D., Santos E.M. 2003.** Condiciones Microbiológicas en Cuatro Rastros Municipales del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- 30. Hayes, P. R. 1993.** Microbiología de los Alimentos. 3º Ed. p 70-87. Editorial Acribia. Zaragoza
- 31. Herrera, J.G.; Villamil, J. 1992.** Inspección e Higiene de Carnes. Fondo Nacional Universitario. Santafé de Bogota.
- 32. Hobbs, B.; Roberts, D., 1997.** Higiene y Toxicología de los Alimentos. 4 ta Ed. p 106-145. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 33. International Commission Microbiological Specifications for Foods. ICSMF. of the International Societiis. 1998.** Microbiología de los Alimentos. Ecología Microbiana de los productos Alimentarios. 3re Ed. p. 1-29. Editorial University of Toronto Press.
- 34. International Commission Microbiological Specifications for Foods ICSMF. 1999** Microbiología de los Alimentos. Su Significado y Métodos de Enumeración. 2da Edición. p. 3-8, 117-129 Editorial University of Toronto Press.
- 35. International Commission Microbiological Specifications for Foods. ICSMF. 1996** Microbiología de los Alimentos. Características de los Patógenos Microbianos. p. 579-589. Editorial University of Toronto Press.
- 36. Ingram, M. 1972.** Meat preservation, past, present and future. R Soc. Health J., London, 92:121-130.
- 37. Jay, J. 2002.** Microbiología Moderna de los Alimentos. Tercera Edición. P. 804. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 38. Jardim, F. B. B; Silva, E. N.; Ramos, M .A. 2004.** Contagem de Microorganismos em carcaças bovinas no abate. Facultades Asociadas de Uberaba. Faculdade de Engenharia de Alimentos. 1:21-27. Brasil.
- 39. Jericho, K et al. 1998.** Verification of the hygiene adequacy of beef carcass cooling processes by microbiological culture and teh temperature-function integration tecnhique. Journal of food protection. 61: 1347-1351.
- 40. Koneman, E.W. 1970.** Postmortem Bacteriology. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., Boca Raton. 1: 5-23.



- 41. Kriaa, H., et al. 1985.** Contamination and bacterial retention capacity of beef carcasses at the abattoir. J. Appl. Bacteriol., London. 59: 23-28.
- 42. Ladeulina, F. F. 2002.** HACCP y Análisis de Riesgos como objetivos de Inocuidad de los Alimentos. Centro Nacional de Higiene de los Alimentos. Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Memorias 18. p.18 – 22 noviembre. La Habana. Cuba.
- 43. Lahr, J. A. 1996.** Beef carcass microbial contamination: post slaughter numbers of bacteria, sources of contamination and variability of data. In: Proceedings of the Reciprocal meat Conference. 49: 132-137. Kansas.
- 44. Latre, M. V.; Lara, C.; Cubero, G.; Rodríguez, A. A.; 1997.** Puntos críticos a considerar como fuentes de contaminación bacteriológica de canales en mataderos. Alimentaria. Abril: 33-36.
- 45. Lawrie, R. 1998.** Ciencia de la carne. Tercera Edición. P. 114-116. Editorial Acribia. España.
- 46. Linton, R. H.; Eisel, W.G.; Muriana, P.M. 1997.** Comparison of conventional plating methods and Petri film for the recovery of microorganisms in a ground beef processing facility. Journal of Food Protection, 60: 1084-21088.
- 47. Locati, G.A.; 1982.** La Técnica del Hisopado en la Industria Cárnica. Limitaciones y comparaciones otras técnicas de muestreo no destructivas. Tesis presentada para magíster en Scientiae en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad del Mar del Plata, Buenos Aires. 56 p.
- 48. Lopéz, H. J. 2000.** Empaque de Carnes en condiciones de Atmósferas Modificadas. En curso: Inspección Sanitario de la Carne. Abril 25- Mayo 22. Santafé de Bogota.
- 49. McAllister, J. S.; Stadtherr, M. P.; Fox, T. L. 1988.** Evaluation of 3M Petrifilm™ culture plate method for enumerating aerobic flora and coliforms in poultry processing facilities. Journal. Food Protection, 51: 658-659.
- 50. Marsden, J. L. & Henrickson R. L. et al .1994.** Tecnología de los alimentos congelados. 1ª Edición en Español. p.202 - 228. A. Madrid Vicente Ediciones. Madrid.

- 51. Mead, G. C. 1994.** Microbiological Hazards from red meat and their control. *British Food Journal*, 96: 33-36.
- 52. Moreno, B. 2002.** Análisis microbiológico obligatorio para evaluar la contaminación superficial de las canales, equipo y utensilios. *Eurocarne*, Madrid 103: 1-10.
- 53. Nelson, C.L.; Fox, T.L.; Busta, F.F. 1984.** Evaluation of dry medium Petri film for Coliform enumeration. *Journal of Food Protection*, 47:520-525
- 54. National Advisory of Microbiological criteria for foods. NACMCF. 1993.** Generic HACCP for raw beef. *Food Microbiology*. London 10: 449-488.
- 55. Norman, G. A. 1982.** Effect of breed and nutrition on the productive traits of beff cattle in south-east. Brazil: Part 3-Meat quality. *Meat Sci.; Essex, Eng., .6:* 79-86.
- 56. Nortje y Naudé.1981.** Microbiology of beef carcass surfaces. *J. Food Protec., London*, 44: 355-358.
- 57. Nortje, G. L., Nel, L., Jordaan, E., et al. 1989.** A microbiological survey of fresh meat in the supermarket trade. Part 1: Carcasses and contact surfaces. *Meat Sci., Barking* 25: 81-97.
- 58. Nortje, G. L., Nel, L., Jordaan, E., et al. 1989.** A microbiological survey of fresh meat in the supermarket trade. Part 2: Beef retail cuts. *Meat Sci., Barking*, 25: 99-112.
- 59. Nottingham, P. M.1982.** Microbiology of carcass meats. In BROWN, M. H. *Meat Microbiology*. London. Appl. Sci. Publ., p. 13-66.
- 60. NTP ISO 3100-2. 1999.** Carne y Productos Cárnicos. Muestreo y preparación de muestras de ensayo para análisis microbiológico. INDECOPI. Lima.
- 61. NTP ISO 2293.1998.** Carne y productos cárnicos. Enumeración de microorganismos. Técnicas del conteo de colonias a 30 °C. INDECOPI. Lima.
- 62. NTP 201. 055. 2003.** Carne y Productos Cárnicos. Definiciones, clasificaciones y requisitos de carcasas y carne de bovino. INDECOPI. Lima.
- 63. OIE. 2004.** Informe de la Tercera Reunión del grupo de Trabajo de la OIE sobre Seguridad Sanitaria de los Alimentos derivados de la Producción Animal. Paris. Francia.

- 64. Oliveira, R .2004.** Microbiología da Carne. Laboratorio de Tecnología dos Produtos de Origen Animal. UNES. Botucatu. On Line: <http://www.fca.unesp.br/outros/tcarne/textos/Roca106.pdf>
- 65. OPS/OMS. 2001.** Guía de Sistemas de Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos y la investigación de Brotes. Buenos Aires. 70 p.
- 66. Palumbo, S.A.; Klein, P.; Capra, J.; Eblen, S.; Millar, A,J. 1999.** Comparison of excision and swabbing sampling methods to determine the microbiological quality of swine carcass surfaces. Food Microbiology, 16:549-461.
- 67. Patterson, J.T., Gibas, P. A.1978.** Sources and proprieties of some organism isolated in two abattoirs. Meat Sci., Barking, 2: 263-273.
- 68. Pearson, A. M. 1994.** La función muscular y los cambios post mortem. En: Price, J. K.; Schweigent, B. S. 1994. The science of meat a meat products. 3ª Edición. Cap. 4 .p. 139 – 174.
- 69. Phillips, D.; Alexander, J.; Jodie F.; Dutton, K. M. 2001.** Journal of Food Protection. Calidad microbiológica de la carne de vaca australiana. Artículo De la Visión: Diario de la protección del alimento. 64: 692-696.
- 70. Prändl, O.; Fischer, A.; Schmidhofer, T.; Sinell, H. 1994.** Tecnología e higiene de la carne. p. 757\_ 767. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 71. Purchas, R. W. 1990.** An asseesment of the role or ph differences in determining the relative tendernes of meat from bulls and stres. Meat Sci., Essex, Eng. 27: 129 – 140.
- 72. Quiroga, G.; García de Siles, J.; López, J. 2001.** Manual para el curso Taller Tecnología de Carnes y Productos Cárnicos. p. 8-34. FAO, Colombia.
- 73. Restaino, L.; Lyon, R. H. 1987.** Efficacy of Petrilm VRB for enumerating coliforms and Escherichia coli from frozen raw beef. Journal of Food Protecction, 50:1017-1022.
- 74. Rodríguez, G.; Gary, R.; Acuff ; Castillo, A. 2004.** Development of a carcass saniting spraying sistem for small and very small slaughterrhouses. Departament. of Animal science. University A&M Texas.

75. **Saint, R. D. 1996.** Qualidade das carcacas e da Carne bovina. En: Congreso Brasileiro das racas zebuinas. 27 a 30 de outubro de 1996. Reproducao e genetica aplicada a os zebuinos. 2. p1.
76. **Sánchez, A.; Dorado, MN.; Bermejo, E.; González, J.L. 2001.** Normalización del muestreo y análisis de canales de abasto. Criterios de Calidad. Eurocarne, 987:1-7.
77. **Sánchez, G. 1999.** Ciencia Básica de la carne. 1ª Edición. P.229 – 233. Fondo Nacional Universitario. Santafé de Bogota.
78. **Sánchez, G. 2000.** Técnicas para mejorar la Calidad higiénica y Palatable de la Carne Fresca. En curso: Inspección Sanitaria de la Carne. Abril 25- Mayo22. Santafé de Bogota.
79. **Sanz, M. C.; Verde, M. T.; Sáez, T.; Sañudo, C. 1996.** Effect of bread on the muscle glycogen content and dark cutting incidente in stressed young bulls. Meat Sci., Essex, Eng, 43: 37 – 42.
80. **Secretary of State for Health. 2002.** Statury Instrument. N°889. Food England, the Meat (Hazard Analysis Critical Control Points) Regulations.
81. **Sikes, A., Maxcy, R. B. 1980.** Postmortem invasion of muscle food by proteolytic bacterium. J. Food Sci., Chicago 45: 293-296.
82. **Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Argentina. 2001.** Anexo II (Circular 3579). Guía de Recomendaciones para unificar Criterios en el marco del anexo de la decisión de la comisión 2001/471/CE. Muestreo Bacteriológico de las carcacas. On Line.<http://www.senasa.gob.pe/Sanidad-Animal/Vigilancia-Zoosanitaria/procedimientos-centro-beneficio.htm>.
83. **Servicio Agrario y Ganadero. SAG. 2004.** Guía de Implementación HACCP para la Industria de la Carne. Santiago de Chile. 78 p.
84. **Servicio Agrícola y Ganadero. SAG. 2003.** Microbiological Sampling Procedure for Slaughtered meat in exportation Slaughterhouses. Santiago. Chile. p. 58
85. **Smith, L.B.; Fox, T. J.; Busta, F.F. 1985.** Comparison of a dry medium culture plate Petrifilm method to the aerobic plate count method for enumeration of mesophilic aerobic colony-forming units in fresh ground beef. Journal of Food Protection, 4:1044 -1045.

- 86. Stopforth, J. D; Samelis, J. N .; Sofos, P. A.; Kemdall, and G.C. Smith. 2003.** Influence of organic acid concentration on survival of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* 0157:H7 in beef carcass wash water and other model equipment surfaces. *Food microbiology*. 20. 651-660.
- 87. Tarrant, P. V.; Sherinton, J. 1980.** An investigation of ultimate pH in the muscles of commercial beef carcasses, *Meat Sci., Essex, Eng* 4: 287–292.
- 88. Tesse, M.A.; Tiburzi, M.C.; Rafaguelli, R.C.; Jiménez, S.M. ; Salsi, M.S. ; Moguilevsky, M.A. 2000.** Comparison of Petrifilm and plate count methods for determining the microbial quality of chicken carcasses. Documento técnico del Instituto de Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional del Litoral. Argentina.
- 89. Varner, A.; Sutherland, J. 1995.** Carne y productos cárnicos. Tecnología, Química y Microbiología. 1ª Edición. p. 68-78. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 90. Wallace A. 1995.a.** Microbiological Methods AOAC Official Methods of Analysis. Supplement March. Bacterial and Coliform Counts in Milk. 16<sup>th</sup> Edition p 986. pp 10-11.
- 91. Wallace A. 1995. b.** Microbiological Methods. AOAC. Official Methods of Analysis Supplement. March. Aerobic plate count in foods. 16<sup>th</sup> ed. Pp 10-11.
- 92. Whitehead, A. 2000.** Hazard analysis and critical control point (HACCP) as a part of an overall quality assurance system in international food trade. *Food control*. 6: 247 - 251.
- 93. Wilkens, S.; Jacob, A.; Globish, H.; Thien, J. 1996.** Evaluation of the bacterial count on carcass surfaces. Applicability of Petrifilm in comparison to other methods. *Fleischwirtschaft*, 76:1006-1009.
- 94. Yong, H.P.; Keun, S.S.; Jong, S.A.; Han, S.Y.; Sang, P.K. 2001.** Evaluation of the Petrifilm plate method for the Enumeration of aerobic microorganisms and coliforms in retail meat samples. *Journal of Food Protection*, 64: 1841-1843.
- 95. Yu, S.L.; Cooke, P. H.; Tu, S. I. 2001.** Effects of chilling on sampling of bacteria attached to swine carcasses. *Letters in Applied Microbiology*, 32: 205-210.

## **ANEXOS**

## ANEXO N° 1: EJEMPLO DEL CÁLCULO DE MICROORGANISMOS POR ÁREA.

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1 \times n_2) d}$$

N = Número de microorganismos por mililitro.

$\sum c$  = Es la suma de colonias contadas en todas las placas de todas las diluciones.

$n_1$  = Es el numero de placas retenidas en la primera dilución.

$n_2$  = Es el numero de placas retenidas en la segunda dilución

d = Es el factor de dilución correspondiente a la primera dilución.

Colonias contadas en la primera dilución retenida ( $10^{-2}$ ): 19 y 16 (duplicados)

Colonias contadas en la segunda dilución retenida ( $10^{-3}$ ): 5 y 3 (duplicados)

$$N: \frac{19 + 16 + 5 + 3}{2 + (0.1 \times 2) \times 10^{-2}} = \frac{43}{0.022} = 1954.54 \text{ ufc/ml}$$

Para hallar el número de microorganismos por área se utilizó la siguiente fórmula:

$N \text{ ufc/ml} \times 100 \text{ (ml de diluyente)} / 400 \text{ cm}^2 \text{ de superficie hisopada}$

$N \text{ ufc/ml} / 4 = N^\circ \text{ ufc/cm}^2$

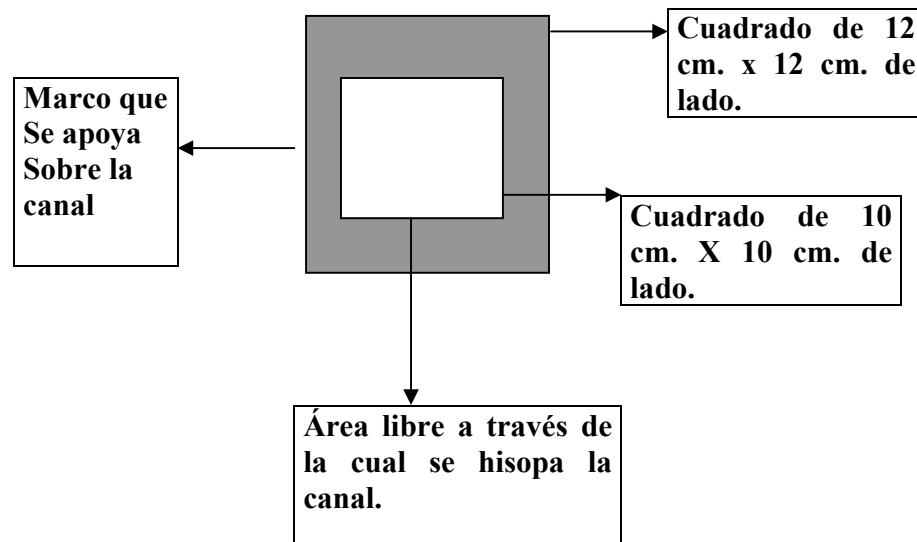
1954.54

$$\frac{1954.54}{4} = 488.635 \text{ ufc/cm}^2$$

**$\text{Log } 488.635 \text{ ufc/cm}^2 = 2.68$**

## ANEXO N° 2: MARCO PARA DELIMITAR LA SUPERFICIE DE MUESTREO

El marco puede ser descartable o reutilizable. El marco descartable elegido fue de papel metálico. El marco se fabrica utilizando una hoja del material elegido, de mayor tamaño que la superficie a hisopar (10 cm. x 10 cm.). Se dibujan dos (uno dentro del otro) cuadrados (\*) (hisopado de superficie de carcasa). El interno, debe tener 10 cm. x 10 cm. (100 cm<sup>2</sup>) de lado (hisopado de carcasa). La figura externa deberá tener, como mínimo, dos (2) o tres (3) centímetros más que la figura interna. Recortar primero la figura externa y luego la interna, la que se extrae, quedando delimitado el marco de referencia para hisopar la canal. Estos marcos se usaron una vez y luego fueron descartados. El rollo de papel elegido debe conservarse en forma y lugar que eviten toda contaminación. Envolver el marco en papel autoclavable y esterilizar.



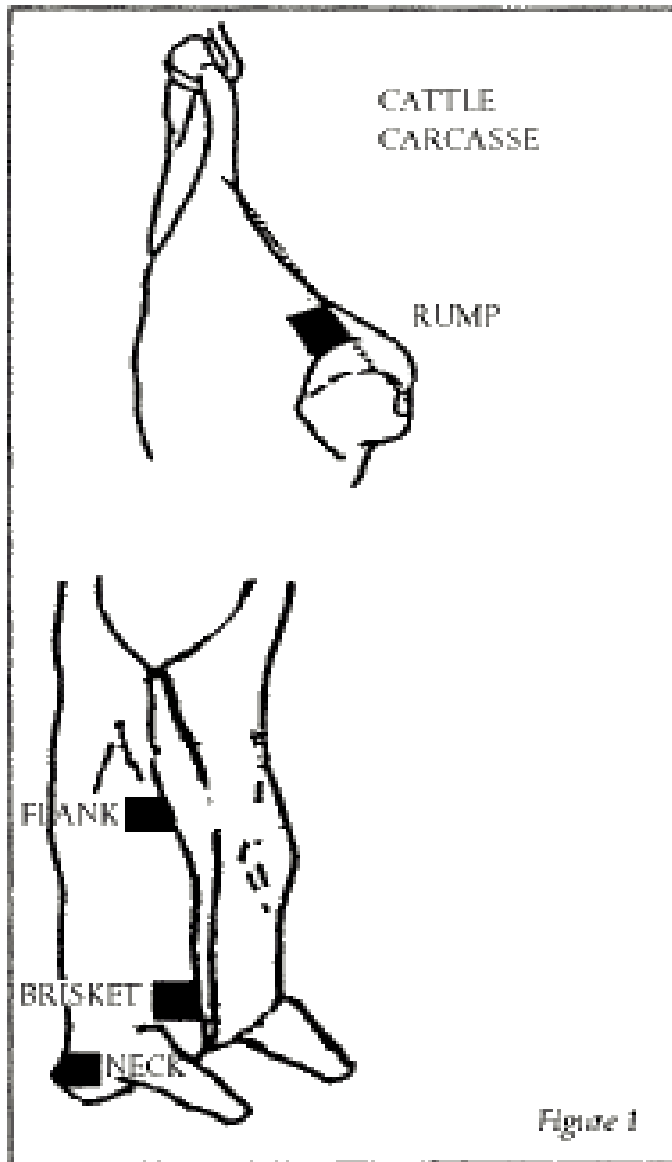


### **ANEXO N° 3: PREPARACIÓN DE LOS HISOPOS Y DETALLE DEL PROCEDIMIENTO HISOPO HÚMEDO-HISOPO SECO**

Los hisopos estériles tuvieron las siguientes características: La cabeza del hisopo (diámetro aproximado: 0.5 cm. x 2 cm. de largo) constituida de algodón, firmemente adherido a un palillo de 12 de largo; envasados en contenedores múltiples con la cabeza alejada del cierre del contenedor. Se adquirió hisopos preesterilizados y se esterilizaron en el laboratorio. En el momento de proceder a hisopar la canal, se extrajo asépticamente el hisopo:

1. Se abrió el contenedor de los hisopos,
2. Se tomó la punta libre del palillo del hisopo, con cuidado para no tocar la cabeza del hisopo que fue utilizada en el hisopado.
3. Se abrió el contenedor de la solución estéril de peptona al 0,1 % y Cloruro de sodio al 0,85 % y sumergió el hisopo durante por lo menos cinco (5) segundos.
4. Se removió el excedente presionando la cabeza del hisopo contra la pared interna del contenedor de la solución peptonada.
5. Sosteniendo el hisopo en un ángulo aproximado de 30° con relación a la superficie de contacto, se frotó el hisopo.
6. Una vez hisopada cada una de las áreas de localización de la canal (Ej.: cuello, pecho, falda y cadera), se posicionó la cabeza del hisopo dentro de la bolsa (la cual fue esterilizada), en la que se reunieron todos los hisopos correspondientes a las diferentes localizaciones de una misma canal y se separó del resto del hisopo quebrándola, dejando la cabeza dentro de la bolsa.
7. Terminada la operación, se repitió con hisopo seco (no humedecido en la solución estéril), el hisopado de cada una de las áreas de localización.

#### ANEXO N° 4: LUGAR DE TOMA DE MUESTRA CARNICA:



Traducción al castellano de los términos en inglés: Cattle carcasse: canal o carcasa de bovino, rump: cadera, flank: falda, brisket: pecho, neck: cuello, figure: figura.

## ANEXO N° 5: CONTROL DE TEMPERATURA DE INCUBACION

N° M	Fecha de Siembra	Hora	T. siembra ° C	T. Control A ° C	T. Control B ° C
De M1 a M8	20/10/04	9:50	35,0	35,3	35,1
De M9 a M16	28/10/04	11:20	34,9	35,5	35,1
De M17 a M23	6/11/04	9:14	35,0	35,1	35,6
De M24 a M30	14/11/04	9:10	35,3	35,4	35,1

Donde: N° M: Número de muestra.

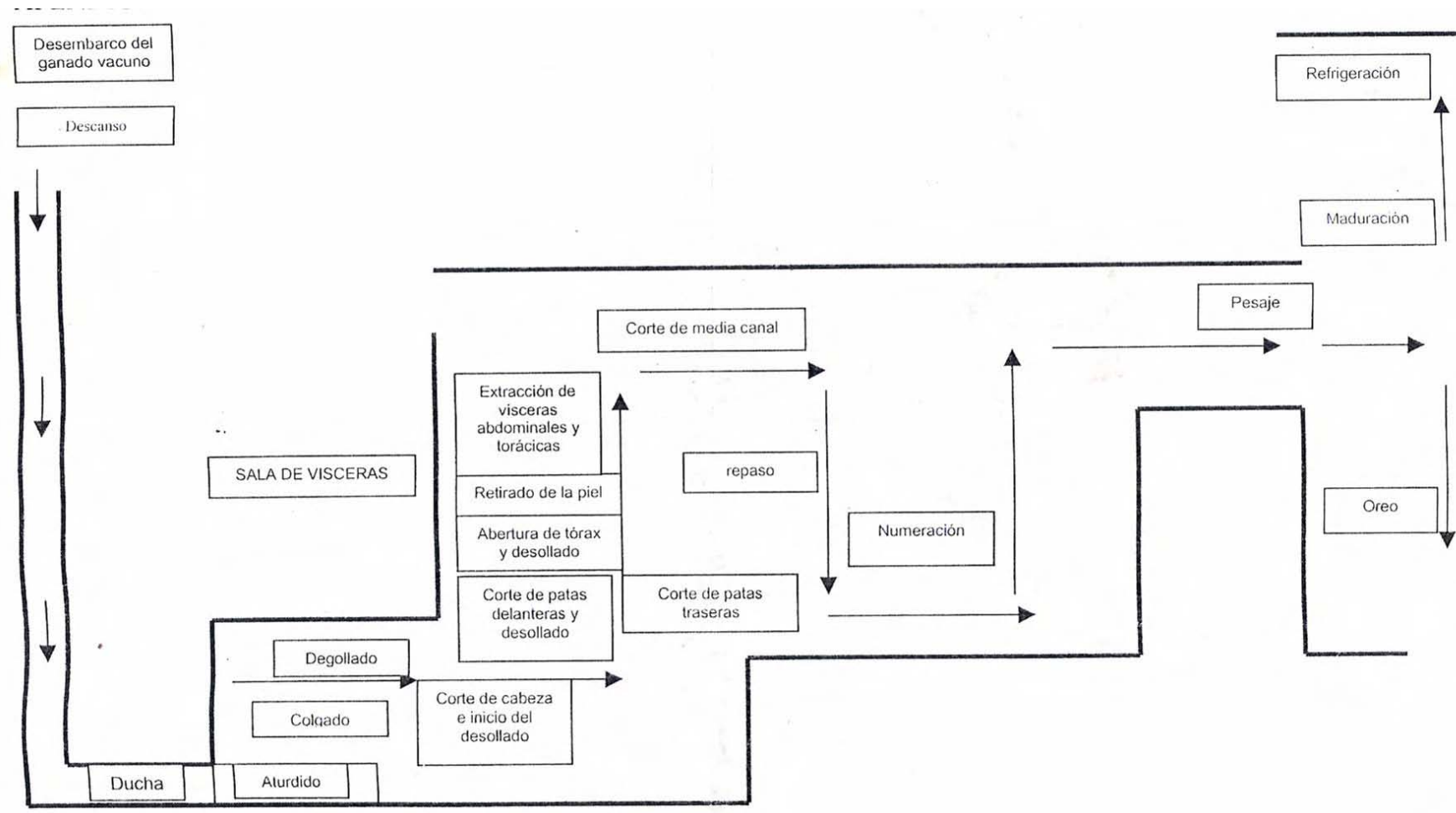
T. siembra ° C: temperatura de siembra en ° C.

T. control A ° C: Temperatura de control a las 4 horas post siembra en ° C.

T. control B ° C: Temperatura de control a las 24 horas post siembra en ° C.

M1 a M30: muestra 1 a muestra 30.

## ANEXO N° 7: FLUJO DE PROCESO EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DE GANADO VACUNO



## ANEXO Nº 8: DECISIÓN DE LA COMISIÓN 2001/147/CE

Guía de recomendaciones para unificar criterios en el marco del Anexo de la Decisión de la Comisión 2001/471/CE (8 de Junio de 2001) por la que se establecen normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos de carnes frescas.

### 1. MUESTREO BACTERIOLÓGICO DE LAS CARCASAS

#### **1.1 Lugar de toma de muestra:**

Se tomarán **muestras** de la superficie externa **de cada una de los siguientes sitios de la carcasa**, dependiendo de la especie animal:

**Bovino:** cuello, pecho, falda y cadera.

**Porcino:** lomo, cabeza, jamón y vientre.

**Ovino / Caprino:** falda. Lateral del tórax, pecho y costillar

**Equino:** falda, pecho, lomo y cadera

#### **1.2 Número de muestras:**

Se tomarán muestras de entre cinco (5) y diez (10) carcasas (Se tomará una muestra, de cada uno de los cuatro sitios indicados de cada carcasa, dependiendo de la especie animal), en el mismo día y cada semana. Esta frecuencia se podrá bajar a una vez cada dos semanas cuando se obtengan resultados satisfactorios durante seis semanas consecutivas. El día de la toma de muestras cambiará cada semana.

#### **1.3 Momento de la toma de Muestra:**

La toma de muestras se realizará transcurrida media jornada de trabajo de sacrificio y antes de comenzar la conservación en frío.

#### **Método de muestreo:**

Hay dos posibilidades:

##### **A) Método destructivo:**

Materiales:

- Bisturí o cuchillo, pinza y tijera estériles

- Marco estéril de 5 cm<sup>2</sup> o cualquier otro implemento que permita cortar una muestra como la indicada
- Diluyente: 100 ml de solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % y 0,1 % de peptona
- Bolsas (tipo whirl Pak) o contenedores estériles

**Procedimiento:**

Definir el área de muestreo con un marco esterilizable, apoyándolo sobre la superficie de la carcasa. Con ayuda de pinza y bisturí o tijera estériles, cortar por el borde interno del marco y tomar una muestra de tejido de 5 cm<sup>2</sup> (Ej: 5 cm de largo x 1cm de ancho ó 2.0 cm x 2.5 cm; espesor máximo: 5mm) de cada uno de los cuatro lugares indicados según la especie animal. Se obtendrán así cuatro muestras de tejido, con un total de 20 cm<sup>2</sup>.

Las muestras se colocarán asepticamente en un contenedor o bolsa plástica estéril (tipo Whirl pak) con 100 ml de diluyente. Rotular, refrigerar y remitir al laboratorio en el que se realizarán los análisis.

**B) Método no destructivo:**

**Materiales:**

- Hisopos de algodón
- Plantilla o marco estéril de **100cm<sup>2</sup>** (10cm x 10cm).
- Diluyente para humedecer hisopos (solución estéril de peptona al 0,1 % y Cloruro de sodio al 0,85 %)
- Bolsas o contenedores estériles
- Diluyente: 100 ml de solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % y 0,1 % de peptona

Utilizar hisopos húmedos y secos para la recolección de muestras. Los primeros deberán humedecerse antes de la toma de muestra, durante al menos 5 segundos, con una solución estéril de peptona al 0,1 % y Cloruro de sodio al 0,85 %. Luego, se deberá frotar un área de 100 cm<sup>2</sup> por cada localización de muestreo (1.1). Primero se frota en sentido vertical, luego horizontal y finalmente en diagonal durante un mínimo de 20 segundos por toda la superficie de la carne, delimitada con la plantilla o marco estéril. Tras la utilización del hisopo húmedo, repetir el mismo procedimiento de muestreo con un hisopo seco.

Se deberá aplicar la mayor presión posible dado que para obtener resultados comparables hay que mantener invariables la coherencia y el rigor de la técnica de unas muestras a otras, de unas carcasas a otras y de unos días a otros. Colocar los hisopos (húmedos y secos) en una bolsa o contenedor estéril a la que se agregarán 100 ml de diluyente.

**Las muestras obtenidas por ambos métodos** se almacenarán refrigeradas a 4 °C hasta que sean analizadas y antes de transcurrir las 24 horas desde la recolección.

Se identificarán las muestras y se registrará:

- la identificación,
- la fecha y
- la hora de toma de cada muestra.

Antes de proceder a su examen, se mezclarán (si no se hubiera hecho así en el lugar de toma de muestra) las muestras de las diversas localizaciones (por ejemplo, cadera, falda, pecho y cuello) de la carcasa que vaya a examinarse (En total ocho hisopos por carcasa: cuatro húmedos y cuatro secos o cuatro tiras de 5 cm<sup>2</sup> correspondientes a los cuatro sitios de toma de muestra de cada carcasa). **Si se llega a resultados inaceptables y las acciones de corrección no conducen a una mayor higiene, no se mezclarán más muestras hasta que se hayan resuelto los problemas de preparación.**

#### **1.5 -Método microbiológico para el examen de las muestras:**

Deberá procederse al examen de las muestras **antes de transcurridas 24 horas desde su recolección.**

Las muestras obtenidas se homogeneizarán durante al menos dos minutos en una bolsa de plástico con los 100 ml de líquido de dilución (solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % y 0,1 % de peptona) mediante Stomacher peristáltico (250 rpm) o mediante un mezclador rotativo (homogeneizador). En su defecto, las muestras recogidas con los hisopos podrán agitarse con fuerza en el líquido de dilución.

Se constituirá así la dilución primaria (tener esto en cuenta al realizar los cálculos de los resultados). Realizar a partir de ésta, diluciones decimales y luego a partir de cada una de ellas, inocular placas para recuento total de bacterias aerobias y de enterobacterias

No obstante, previa autorización de las autoridades competentes y después de haberse establecido los criterios adecuados, podrán emplearse recuentos de *E. Coli* en lugar de los de enterobacterias.

Además de los descriptos, podrán utilizarse métodos ISO para el examen de las muestras. Asimismo se podrá recurrir a otros métodos cuantitativos de análisis de las bacterias mencionadas (Ej: Petrifilm) si están aprobados por organismos científicos reconocidos internacionalmente, tras el visto bueno de las autoridades competentes

#### **1.6 -Registro**

Todos los resultados de las pruebas se registrarán en términos de unidades formadoras de colonias (ufc)/cm<sup>2</sup>. Para que sea posible la evaluación de los resultados de los registros, se confeccionarán cuadros de control en los que se presentarán en orden cronológico los resultados de las pruebas de, al menos, las últimas 13 semanas.

En el registro figurará:

- el tipo, el origen y la identificación de la muestra.

- la fecha, hora de su recolección y el nombre de la persona que tomó la muestra.
- el nombre y dirección del laboratorio que analizó la muestra.
- la fecha del análisis de las muestras en el laboratorio y los detalles del método utilizado, con inclusión de:
  - número de diluciones efectuadas,
  - número (individual o por duplicado) y tipo de placas ( PCA, VRBD, Petrifilm) inoculadas por dilución,
  - temperatura y tiempo de incubación de las placas y
  - los resultados expresados en ufc/placa, que permitan calcular el resultado en ufc/cm<sup>2</sup> (Anexo 5) y la conversión de éste a logaritmo.

Firmará el registro un responsable del laboratorio. Los documentos se conservarán en el establecimiento durante, al menos, 18 meses. Se presentarán a petición del inspector oficial del SENASA.

#### 1.7- Aplicación de los criterios microbiológicos a los resultados de los análisis de muestras

Los recuentos bacterianos se caracterizan por presentar una distribución asimétrica. Uno de los modelos de distribución que describen las formas asimétricas es el de la distribución logarítmica. En este modelo, si se transforman los datos obtenidos en su logaritmo, los nuevos valores siguen una distribución normal.

Por lo tanto, los valores obtenidos en ufc/cm<sup>2</sup>, deberán ser convertidos a logaritmos para que puedan ser tratados como provenientes de una distribución normal.

#### **Muestras tomadas por el método destructivo (cuadro 1):**

Los valores diarios de la media logarítmica se distribuirán en tres categorías para la verificación del control del proceso:

##### **Acceptables, Dudosos e Inacceptables.**

«M» y «m» representan los límites superiores de las categorías precaria y aceptable en el caso de muestras tomadas por el método destructivo.

Para uniformizar los procesos industriales y facilitar la creación de una base válida de datos de referencia, es imprescindible utilizar el método disponible más fiable. **Por ello conviene recordar que con la técnica de hisopo, no destructiva, se recoge sólo una proporción (con frecuencia, del 20 % o menos) de la flora total presente en la superficie de la carne, por lo que sólo constituye un indicador de la higiene de dicha superficie.**



**Cuadro1-**Valores diarios de la media logarítmica de resultados aceptables, dudosos e inaceptables de contaminación (expresados en ufc/cm<sup>2</sup>) de bovinos, porcinos, ovinos, caprinos y equinos; muestras tomadas mediante el método destructivo:

Parámetro	Valores aceptables		Valores dudosos (> <b>m</b> pero ≤ <b>M</b> )	Valores Inaceptables (> <b>M</b> )
	Bovinos/Ovinos/caprinos/Equinos	Porcinos	Bovinos/porcinos/Ovinos/caprinos/Equinos	Bovinos/porcinos/Ovinos/caprinos/Equinos
Recuento Total de Colonias Aerobias	< 3.5 Log	<4.0 Log	<3.5 Log (porcinos: <4.0 Log)-5.0 Log	>5.0 Log
Enterobacterias	<1.5 Log	<2.0 Log	1.5 Log (porcinos:2.0 Log)- 2.5 Log (porcinos: 3.0 Log)	>2.5 Log (porcinos:>3.0 Log)

**Métodos distintos al destructivo:**

Si se los utiliza, habrá que establecer individualmente, para cada método aplicado, los criterios de contaminación bacteriana, de modo que puedan cotejarse con el método destructivo y puedan ser aprobados por las autoridades del SENASA.

**1.8- Criterios de verificación**

Los resultados de las pruebas se clasificarán de acuerdo con los respectivos criterios microbiológicos en el mismo orden en que se recogieron las muestras. Conforme se obtiene el resultado de cada nuevo análisis, vuelven a aplicarse los criterios de verificación para evaluar la situación del control del proceso en cuanto a la higiene y a la contaminación fecal.

Si se obtiene un resultado inaceptable o una tendencia a los resultados dudosos, deben revisarse los controles del proceso, descubrir las causas, si es posible y evitar que tal situación se reproduzca.

**1.9- Comunicación de los resultados**

Los resultados de los análisis se comunicarán a los responsables lo antes posible. Serán empleados para mantener y mejorar las condiciones higiénicas del sacrificio. Las causas de los resultados dudosos o inaceptables podrán aclararse mediante consulta con el personal del matadero; podrían intervenir los siguientes factores:

- (1) malos procedimientos de trabajo,

- (2) formación e instrucciones inexistentes o insuficientes,
- (3) uso de materiales y productos inapropiados de limpieza y desinfección,
- (4) mantenimiento incorrecto de los aparatos de limpieza o
- (5) supervisión inadecuada.

## **I. INTRODUCCIÓN**

En nuestro país una de las principales fuentes de proteína para la alimentación humana es la carne de bovino, con la consolidación en los últimos años de grandes autoservicios y supermercados, se ha dado origen a una mayor competitividad y por tanto exigencia en cuanto a la calidad y sanidad de la carne que se ofrece al consumidor. El panorama nacional de la industria bovina que da origen a la carne para consumo está determinado por diversos procesos relacionados con la producción agropecuaria, la salud pública y el comercio exterior. En este panorama la necesidad del aseguramiento de la inocuidad de la carne se ha convertido en una necesidad prioritaria y una exigencia cada vez mayor.

Con respecto al beneficio de ganado vacuno en nuestro país, éste se caracteriza por su elevada heterogeneidad en el tamaño de las empresas, los mercados a los que se dirigen, los niveles tecnológicos usados en el país. A nivel nacional existen 358 camales, de los cuales solo el 26% cuentan con autorización y el 1% tienen un buen nivel tecnológico, lo que quiere decir que solo 4 establecimientos reúnen adecuadas condiciones técnicas, el

resto (más de 300) no reúnen las mínimas condiciones de higiene y de sanidad, por lo tanto su operatividad constituye un serio atentado contra la salud pública.

Otra gran preocupación es que en la gran mayoría de mataderos en nuestro medio, no se cumple con la Inspección Sanitaria, entre otras disposiciones contenidas en el Reglamento Tecnológico de Carnes. Existe concentración de la matanza, debido a que los camales con más capacidad de matanza (más de 10,000 cabezas por mes) representan el 0.84% de los establecimientos y tienen a su cargo el 23% de la matanza. En el otro extremo se ubica el 87% de las plantas (benefician menos de 1,000 cabezas por mes) que son responsables del 24% de la matanza. En Lima se beneficia el mayor porcentaje de ganado siendo los principales mataderos Impelsa, La Colonial SACIP, Hierbateros con 25%, 22% y 21% de participación en el beneficio de Lima Metropolitana.

La contaminación microbiológica de las canales puede ocurrir en todas las operaciones de faenamiento, almacenamiento, distribución y su intensidad depende de la eficiencia de las medidas higiénicas adoptadas. (Varnan, 1995; Quiroga, 2001, Jericho, 1998). El propio bovino es la mayor fuente de contaminación microbiana de las canales; la microflora de la piel, tracto gastro intestinal y respiratorio son reservorios de microorganismos y flora predominantemente saprofita. Por esto la carne en su proceso de obtención, se convierte en un alimento con alta probabilidad de generar enfermedad en el consumidor, por los microorganismos patógenos que llegan a ella, también se contamina por microorganismos saprofitos, que van a alterarla, a menos que se mantenga refrigerada o congelada. (Marsden, et al 1994). La importancia de las bacterias en relación a la carne, reside principalmente en que ellas están íntimamente ligadas al proceso de infección e intoxicación alimentaria.

La contaminación microbiana de la carne constituye un riesgo sanitario importante, además propicia la mayor rapidez en su descomposición, por lo cual debe ser controlada. Al ser los mataderos los lugares oficiales para el beneficio de los animales, estos deben cumplir con las normas sanitarias establecidas para verificar el control de la contaminación microbiana y garantizar condiciones mínimas de calidad higiénica y tecnológica de los productos que llegan al consumidor. El muestreo microbiológico de canales en matadero se

muestra como una herramienta utilizada a modo de evaluación interna sobre los métodos de faenado y manipulación de dichas canales.

El objetivo del presente estudio fue determinar la contaminación microbiológica de las canales mediante la determinación del Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales mediante el método de Hisopado en Canales de ganado bovino, en un Camal que cuenta con Buenas Prácticas de Manufactura y tiene instalado su programa de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP), para la playa de faenamiento. Contrastando los resultados obtenidos con los límites microbiológicos definidos en el presente estudio, cuya importancia radica en que este paso es necesario para evaluar la higiene en las operaciones de carnización y para determinar la calidad sanitaria de la carne que se obtiene en el matadero. Éste estudio da a la industria cárnica y a las investigaciones que hacen referencia a la carne de bovino, una herramienta para ser usada en futuras investigaciones que se refieren a la calidad de ésta.

## **II. REVISIÓN BIBLIOGRAFICA**

### **2.1. MICROBIOLOGÍA CÁRNICA**

La contaminación microbiana de la carne, puede ocurrir en el propio matadero por contacto con la piel, pelos, patas, contenido gastro intestinal, urinario, leche de ubres, utensilios, manos y ropas de los operarios, agua utilizada para el lavado de las canales y aire de los locales de faenamiento y almacenamiento. (Varner, 1995; Oliveira, 2004; Bartels, 1980; Belk, 2001). En los mataderos, las manipulaciones incorrectas realizadas a lo largo de los procesos y especialmente en el faenado, influyen en la contaminación final de la superficie de las canales. (Bell, 1997; Sánchez et al, 2001). En muchos casos la contaminación por patógenos durante el faenado y la obtención de la carne es más importante que las propias enfermedades de los animales al menos en los países con un elevado nivel de sanidad animal. (Moreno, 2002).

La piel es considerada la fuente primaria de contaminación fecal que eventualmente es transferida al tejido estéril de la canal. (Lahr, 1996; Castillo, 1998). Durante el sangrado y no obstante el empleo de un cuchillo estéril, siempre existe el riesgo de contaminación de la canal, por presencia de bacterias en la piel incidida. (Jay, 2002, Carballo, 2001; Prändl, 1994). En las operaciones de faena son señalados: los corrales de espera, las operaciones de desollado y evisceración como puntos probables de contaminación cruzada. (NACMCF, 1993). (Fotografías N°: 1, 2, 3)

Los gérmenes que se encuentran habitualmente en el contenido intestinal, como *Escherichia coli*, indican contaminación fecal, con todos los riesgos añadidos que esto lleva consigo. Especialmente altas cifras de gérmenes totales son indicio de alguna deficiencia en la higiene durante la manipulación u otro tratamiento descuidado. (Restaino y Lion, 1987; Moreno, 2002). Las canales de animales pueden ser contaminadas durante el sacrificio y faenado por agentes tales como *Salmonella sp*, *E. coli* O157:H7, *Campilobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Clostridium perfringes*, *Staphilococcus aureus* u otros patógenos como resultado de que ellos mismos están colonizados o porque se contaminan durante algunos de los procesos. (OPS/OMS, 2001).

Los animales pueden estar infectados clínicamente o convertirse en excretores fecales asintomáticos y transitorios de Salmonelas. (Hobbs, B., 1997). Existen evidencias que señalan al ganado bovino como reservorio de agentes patógenos transmisibles por alimentos debido a que varios estudios de exposición, relacionan epidemiológicamente el consumo de alimentos de origen animal con ETAS específicas. (Fernández, 2003; Varner, 1995; Castro, A., 2002; OPS/OMS, 2000; Ladeulina, 2002). No toda la contaminación proviene de los animales, también es posible que las carnes se contaminen con restos fecales de origen humano presentes en las manos de quienes las manipulan. (Borie, 1996). Los microorganismos patógenos derivados de personal infectado o portadores sanos incluyen: *Salmonelas spp*, *Shigella spp*, *Bacillus proteus*, *Staphilococcus aureus*, *Clostridium welchi*, *B. cereus*, *Cl. botulinium* y estreptococos fecales. (Lawrie, 1998)

Fotografía N° 1: Sangría



Fotografía N° 2: Evisceración



Fotografía N° 3: Desollado





## **2.2. FLORA AEROBIA MESOFILA**

Los recuentos de bacterias viables se basan comúnmente en el número de colonias que se desarrollan en placas de agar nutritivo que han sido previamente inoculadas con cantidades conocidas del alimento diluido e incubadas en condiciones ambientales predeterminadas; el recuento más comúnmente utilizado para indicar la calidad sanitaria de los alimentos es el recuento de bacterias aerobias mesófilas. (ICSMF, 1999). El control de la calidad microbiológica del procesado de la carne conlleva al desarrollo y uso de métodos diseñados para mantener baja la carga microbiana, reduciendo la contaminación e impidiendo su multiplicación. (ICMSF, 1996; Fernández-Gines, 2004). Para mantener una adecuada calidad higiénica en la carne se hace necesario que se controle de forma periódica tanto los manipuladores, las canales, el agua, como los utensilios utilizados durante el faenado del animal. (Latre, 1997; Jardim et al, 2004). Por supuesto también el modo de cómo deben realizarse las operaciones de faenado o carnización. La contaminación microbiana de una canal, por regla general, es superficial lo que debe tenerse en cuenta a la hora de la toma de muestras. Desde el punto de vista económico y práctico no es deseable utilizar el método llamado destructivo que lleva consigo el corte de una lámina superficial de tejido, sino, que se recomienda la técnica del frotado con hisopo. Las muestras de una misma canal pueden juntarse y mezclarse íntimamente para formar una única unidad analítica; como la contaminación de la carne es, a menudo, muy desigual, debiendo tomarse las muestras de diferentes partes de la canal, eligiendo aquellas que se contaminan más fácilmente y donde el crecimiento microbiano es más frecuente. (ICSMF, 1999).

## **2.3. LA MICROFLORA CONGÉNITA DE LOS RUMIANTES Y SU EVOLUCIÓN**

Al nacer el tracto digestivo de los rumiantes es fisiológicamente igual al de los monogástricos, el complejo retículo-ruminal se desarrolla rápidamente entre las 2 y 6 semanas de edad, a medida que los animales ingieren hierba y piensos. Al principio hay en el intestino un gran número de *E. coli*, *Cl. perfringes* y *Estreptococos* que forman parte de las heces ( $10^7$ /g -  $10^8$ /g *Cl. perfringes*,  $10^6$ /g *E. coli*). La gran

concentración de ácidos grasos volátiles y el PH del líquido ruminal, bien desarrollado, de los animales debidamente alimentados proporcionan cierta protección contra Salmonelas y E coli. En el intestino grueso de los rumiantes se halla con frecuencia *Campilobacter jejuni*. *E. coli* productor de la verotoxina (VTEC), se encuentra con frecuencia en heces de vaca. En la piel y cubierta pilosa del animal hay un gran número de microorganismos residentes: entre los que se incluyen Salmonelas y *L. monocitogenes* procedentes del ambiente: suelo, pastos y heces. (Oliveira, 2004). Durante el transporte de ganado vacuno desde la explotación ganadera al matadero, las Salmonelas y otros microorganismos de las heces contaminan los vehículos de transporte y las zonas de espera de los mataderos. Cuanto más tiempo permanecen los animales en los locales de espera del matadero, mayor será su contaminación externa y mayor incidencia de Salmonelas tendrán en el tracto intestinal. (ICSMF, 1998; Whitehead, 2000; Gallo, 1998; Forrest, 1979). Las heces contienen esporas de *Cl. perfringes* y *C. jejuni* en menor cantidad. El líquido ruminal puede contener Salmonelas. La piel y el pelo pueden llevar Salmonelas en número considerable; Patterson y Gibas en 1978 encontraron  $4 \times 10^6$  Salmonelas/g en el pelo del vacuno. En raspados de pezuñas se han encontrado 260 Salmonelas/g.

## **2.4. ECOLOGÍA DEL DESARROLLO MICROBIANO EN LA CARNE**

Por su composición la carne constituye un medio nutritivo que ofrece a la mayoría de microorganismos excelentes condiciones de multiplicación. Los factores más importantes para el desarrollo de los microorganismos en la carne son: el PH, la temperatura ambiental, la humedad y los nutrientes. Antes del sacrificio el PH normal del músculo está alrededor de 7.0 y luego del sangrado se produce un descenso gradual, que alcanza un valor crítico de 5.4; éste desciende en unas 24 horas desde la zona neutra hasta la zona ácida. (Fehlberk, 1995; Apple et al, 1995; Purchas, 1990). Este es un factor que influye sobre varios aspectos de la calidad de la carne, como la inhibición del crecimiento bacteriano. (Sánchez, 1999). El peligro de una alteración de origen bacteriológico es mayor cuando el PH ha alcanzado un valor de 6.2 a 6.5. (Bouton et al, 1971; Norman, 1982; Sanz et al, 1996). Con respecto a la capacidad de

conservación de las carnes, es sabido que la carne de los animales fatigados se altera con mayor rapidez que la de los animales descansados y que esto es una consecuencia directa del PH final que alcanza la carne. (Jay, 2002, Bouton et al, 1971; Norman, 1982; Sanz et al, 1996; Tarrant, 1980; Pearson, 1994). La temperatura ambiental es otro factor importante que permite la multiplicación microbiana; en términos generales a mayor temperatura, mayor velocidad de crecimiento; muchos microorganismos de la carne desarrollan a temperaturas comprendidas entre 0 °C y más de 65 °C, pero en general para un determinado microorganismo, el mayor crecimiento tendrá lugar en su temperatura óptima de crecimiento. (Prändl, 1994; Lawrie, 1998). Por otro lado el peritoneo es la estructura más resistente a la penetración bacteriana, seguida por la superficie externa y posteriormente por cortes superficiales. Las bacterias de la superficie de la carne no penetran en el tejido muscular profundo a menos que presenten altos conteos; la penetración no es inmediata, ya que depende de la actividad proteolítica de la bacteria, principalmente hidrólisis del colágeno y las enzimas responsables de esta hidrólisis, son producidas en fase logarítmica de crecimiento. (Gill, 1977).

A diferencia de los resultados obtenidos por Sises y Maxey en 1980 en que demuestran que la invasión bacteriana no está en función de la actividad colagenolítica presente en las proteasas bacterianas sino por un mecanismo altamente influenciado por la hidratación de las proteínas de la carne, auxiliado por poros y canales creados durante el congelamiento y descongelamiento de la carne o por la cocción de la carne. Posteriormente Gill y Penney en 1982 y Gill en 1984 observaron que el área de invasión bacteriana depende de la degradación proteolítica de la región entre la fibra muscular y grupos de fibras del endomisio. La micrografía electrónica mostró claramente que las bacterias invadían pequeños caminos formados en esta área después del rigor mortis. (Oliveira, 2004).

## **2.5. ALTERACIÓN DE LA CARNE**

Las carnes se alteran debido a una serie de microorganismos deteriorantes como *Pseudomonas spp*, *Shewanella*, *Enterobacteriaceae*, *Bochotrrix thermospacta*,

bacterias lácticas, levaduras y mohos. (ICSMF, 1998). Los microorganismos alterantes crecen rápidamente en la carne, lo que determina que este alimento sea muy perecedero. Por lo tanto el comercio cárnico, incluso a nivel local, depende de los sistemas de conservación que controlan la flora alterativa. (Camacho, 1982). Para satisfacer sus necesidades nutritivas y supervivencia, los microorganismos invasores alteran la carne de diversas maneras; en primer lugar, la carne se licúa debido a que el microorganismo secreta una colagenasa que hidroliza el tejido conectivo entre los haces de fibras causando su desintegración; a este cambio le sigue la producción de gas; los aminoácidos libres presentes son atacados por deaminasas y decarboxilasas, produciendo hidrogeno, dióxido de carbono, aminas y amoniaco; es principalmente por el ataque a los aminoácidos por lo que se producen olores hediondos y sabores desagradables. (Lawrie, 1998).

La formación de limo (viscosidad) superficial es un efecto observable debido a la coalescencia de un número suficiente de colonias microbianas individuales, colonias que al principio están separadas, de modo que cuanto menor sea la contaminación inicial más tiempo tardará en formarse el limo. Los cambios de coloración pueden deberse a la alteración o destrucción de pigmentos cárnicos: la mioglobina puede oxidarse a metamioglobina marrón, puede combinarse con SH<sub>2</sub>, producido por bacterias, para formar sulfomioglobina o ser degradada para formar pigmentos biliares amarillos o verdes por el peroxido de hidrógeno producido microbiológicamente.

## **2.6. FUENTES DE CONTAMINACIÓN MICROBIANA EN LA CARNE**

### **2.6.1. BACTERIAS INTRÍNSECAS**

Ingram en 1949, definió los microorganismos presentes internamente en los tejidos de los animales sanos como “bacterias intrínsecas”, que pueden estar en los tejidos antes o después de la muerte, generalmente son provenientes del tracto gastrointestinal. A pesar de que algunos autores consideran la porción interna del músculo de los animales sanos como estéril, hay evidencia de la presencia ocasional de bacterias aerobias y anaerobias, aunque en cuantía muy reducida. En

efecto, el número de microorganismos en la masa muscular profunda de la canal de animales sanos, es muy pequeña, de 0.1 a 100/gr. La contaminación tisular profunda puede ocurrir de tres formas:

#### **2.6.1.1. Invasión Ante mortem**

Ocurre a través de lesiones en el animal, principalmente a nivel de mucosas y puede ser contenida por los mecanismos inmunológicos del animal. (Oliveira, 2004)

#### **2.6.1.2. Invasión Agonal**

No hay evidencia de ocurrencia de la invasión agonal a través de penetración de bacterias de la luz del tracto gastro intestinal hacia la sangre en el momento de la muerte, en condiciones normales, pero los microorganismos pueden ir a la circulación sanguínea a través de instrumentos utilizados en el aturdimiento como la pistola del perno cautivo y en la sangría. (Oliveira, 2004). El perno de una pistola de percutor cautivo puede portar una carga bacteriana de  $4 \times 10^5$  ufc/cm<sup>2</sup> de superficie metálica. (Lawrie, 1998); Makey en 1979, mostró que la pistola de perno cautivo, ropa y cuchillas de sangría contaminada con  $10^8$  a  $10^{11}$  ufc/cm<sup>2</sup>, promoverían la presencia de estos microorganismos en los tejidos internos. Bacterias del dardo cautivo fueron encontradas en el bazo más no en el músculo, de la ropa en bazo y en el músculo; y del cuchillo de la sangría en el corazón, pulmón, bazo, hígado y riñones, pero raramente en el músculo.

#### **2.6.1.3. Invasión Post mortem**

No hay evidencia de la invasión de microorganismos provenientes del tracto gastro intestinal en las primeras horas post mortem. La invasión post mortem es importante a nivel del matadero cuando por problemas mecánicos o eléctricos, la faena es interrumpida y el animal no es desollado ni eviscerado después de la sangría. (Koneman, 1970). Aunque Gill, 1976, trabajando con canales de ovinos sacrificados, no eviscerados y mantenidos a 20° C por 24 horas, observó que las

muestras de músculo y linfonódulos removidos asépticamente no presentaron crecimiento de microorganismos en agar nutriente. Concluyéndose que la práctica de condenación de canales por atraso de evisceración debe ser mejor estudiada.

#### **2.6.2. MICROORGANISMOS DE LA PIEL**

Durante el crecimiento y desenvolvimiento de los bovinos, la piel adquiere grandes poblaciones de microorganismos; esta población incluye los microorganismos normales de la piel y los adquiridos del suelo, agua, pasto y heces. (Whitehead, 2000). Entre los muchos géneros de microorganismos, los psicotrofos son provenientes del suelo y del agua; *Pseudomonas* del agua y *Brochotrix thermosphacta* del suelo y heces.

La población microbiana de la piel de los animales en el momento del sacrificio, depende de una serie de factores como local de producción, método de transporte y condiciones de estabulación en el matadero. El régimen de crianza también afecta la contaminación de la piel.; en el régimen de crianza extensiva, los animales pueden presentar menos bacterias fecales y más microorganismos del ambiente en que están estabulados. (Oliveira, 2004).

#### **2.6.3. MICROORGANISMOS DEL TRACTO GASTRO INTESTINAL**

El tracto gastrointestinal es otra fuente de microorganismos por ello la evisceración debe ser conducida cuidadosamente con el objetivo de minimizar la contaminación de las canales, evitándose hacer perforaciones en éste; además debe ser realizada dentro de los primeros 30 minutos posteriores al sacrificio y se debe anudar el esófago y el recto. (Bermejo, 2000; Quiroga, 2000). En el momento del sacrificio, el rumen puede contener 6.0 a 8.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> de aerobios mesófilos. Las heces pueden contener 7.0 a 9.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> de aerobios mesófilos. (Oliveira, 2004).

Fotografía N° 4: Lavado.



Fotografía N° 5: Oreo.



Fotografía N° 6: Colocación del marco estéril en Cuello.



#### **2.6.4. MICROORGANISMOS DEL AIRE ATMOSFÉRICO.**

Una de las fuentes potenciales de contaminación microbiana que también han recibido poca atención de la industria de la carne es el aire atmosférico. Después de la remoción de la piel las canales están sujetas a este tipo de contaminación, debido a la deposición en su superficie de microorganismos a partir de la atmósfera de la sala de matanza. El contacto de la carne con el aire atmosférico continúa en las etapas subsiguientes como oreo, almacenamiento, elaboración de derivados y comercialización. (Lawrie, 1998). En países en los cuales se practica un adecuado control del aire circulante la contaminación bacteriana superficial de la carne resulta irrelevante. (Jay, 2002). (Fotografía N°: 4, 5)

La calidad del aire atmosférico depende principalmente del control higiénico del establecimiento, de la limpieza y de las posibilidades de su buena realización, considerando que pisos, paredes, equipos, utensilios, almacenamiento, sistemas de ventilación y drenaje son fuentes potenciales de contaminación del aire atmosférico. Con relación a la población microbiana del aire, puede ocurrir una variación significativa de ésta en un pequeño intervalo de tiempo en el mismo local y dentro del mismo establecimiento; entre los principales grupos de microorganismos presentes en el aire atmosférico en el matadero se encuentran: Micrococos, Coliformes, Bacillus y Estafilococos. Por regla predomina *E. coli* en el aire atmosférico de corrales y sala de matanza, habiendo bajos conteos de este microorganismo en las cámaras de refrigeración, ocurre lo inverso con *Pseudomonas*. (Oliveira, 2004).

#### **2.6.5. CONTAMINACIÓN DE LA CANAL DURANTE LAS OPERACIONES DE FAENA.**

##### **2.6.5.1. CONTAMINACIÓN DE LA SUPERFICIE DE LA CANAL**

La superficie de la canal es contaminada principalmente por la piel; las primeras incisiones en la piel para comenzar el desuello son realizadas con un cuchillo, que contamina la superficie de la canal; cuchillas esterilizadas usadas para la incisión y



separación de la piel pueden adquirir en toda la lámina, en torno a 7.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> de aerobios mesófilos. Otras contaminaciones en esta fase del trabajo son provenientes del contacto de la superficie de la canal con la piel ya separada o con las manos del operario. La variación de los recuentos bacterianos a lo largo de la línea de faena depende de la adhesión o fijación de microorganismos en la superficie de la canal, que puede ser dividida en tres fases: adsorción del microorganismo en la superficie debido a las fuerzas de Vander Walls, consolidación del microorganismo en la superficie, colonización y distribución de los microorganismos en la superficie, varios factores afectan la adhesión o adherencia de las bacterias a la superficie de la canal, principalmente la temperatura ambiental, sustratos presentes en la carne, PH y capacidad de retención de agua.

#### **2.6.6. CONTAMINACIÓN DE LA CANAL DESPUÉS DE LAS OPERACIONES DE FAENA.**

Después del término de las operaciones de faena, las canales bovinas pueden presentar un recuento de 3.0 a 5.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> de aerobios mesofilos. Los recuentos microbianos de la canal antes del enfriamiento y después de este periodo presentan pocas variaciones. (Nottingham y Nyborn), después (Nottingham, 1982), observaron un recuento medio de mesofilos a 37° C antes de la refrigeración de 2.3 Log ufc/cm<sup>2</sup> y un recuento medio de 2.5 Log ufc/cm<sup>2</sup> después de 48 horas de refrigeración a 7° C. Durante el proceso de refrigeración de la canal, pueden ocurrir variaciones del tipo de microorganismo contaminante.

Hay predominancia inicial de bacterias mesofilas, invirtiéndose para psicotróficas durante el almacenamiento y refrigeración. Las canales en el comercio pueden ser clasificadas en cuanto al aspecto higiénico sanitario, según Nortjé et al; 1989, un recuento de 3.0 Log ufc/cm<sup>2</sup> puede ser considerado como indicativo de una buena higiene y una eficiente operación comercial.

## **2.7. RECuentos MICROBIANOS OBTENIDOS EN ESTUDIOS ANTERIORES.**

Nortje en 1981, utilizando la técnica de la salchicha artificial observó que los recuentos obtenidos a lo largo de la línea de faena en bovinos obedecían a la siguiente secuencia: después de la sangría, los recuentos totales eran de 2.9 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después del desollado: 2.6 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después del lavado con agua fría eran altas: 2.9 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después de la refrigeración por 24 horas eran 2.3 Log ufc/cm<sup>2</sup>. (Kriiaa, 1985). Jardim en 2004, por el método no destructivo de hisopado para canales bovinas, encontró después de la sangría (cuero): 3.72 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después del desuello: 1.79 Log ufc/cm<sup>2</sup>, después del lavado 2.09 Log ufc/cm<sup>2</sup>. Asimismo, Phillips, en 2001, en canales bovinas utilizando el método de la esponja para Bacterias Aerobias Mesófilas totales; encontró una media de 2.42 Log ufc/cm<sup>2</sup>.

Godínez y colaboradores en 2003, muestrearon mediante frotado con gasa en canales bovinas: el promedio fue de 4.5 Log ufc/cm<sup>2</sup>. Fernández.-Gines en 2004; comparó el método destructivo con el método no destructivo de hisopado para el recuento total de colonias aerobias, en superficie de canales bovinas, encontrando diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre ambas técnicas de muestreo, siendo las medias, para el método destructivo y el método del hisopado: de 4.57 y 3.71 Log ufc/cm<sup>2</sup>, respectivamente.

## **2.8. LÍMITES MICROBIOLÓGICOS EN CANALES BOVINAS.**

Los requisitos microbiológicos de canales bovinas para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas Totales debe ser  $< 10^6$  ufc/ml, para *Salmonella* debe haber ausencia en 25 gr., para *Escherichia coli* debe ser  $< 10^2$  ufc/g., numeración de Bacterias Psicrófilas debe ser  $< 10^5$  NMP/g; para el recuento de Coliformes Totales debe ser  $< 10^2$  ufc/g., para numeración de *Staphylococcus aureus* debe ser  $< 10^2$  ufc/g. (NTP 201.055, 2003; NTP ISO 2283, 1998). Asimismo el límite microbiológico para carne cruda de bovino: Aerobios mesófilos Totales es de  $10^5 - 10^7$  ufc/ml. (DIGESA, 2003). Para canales antes de refrigerarse el límite

es de  $10^6$  ufc/ml., ya que una carne con un recuento superior a  $10^7$  ufc/ml., ha sufrido una contaminación considerable, ha estado expuesta a unas condiciones que han permitido la multiplicación de la flora presente inicialmente hasta unas tasas próximas a las que ya mostrarían evidencias de una incipiente alteración. Inmediatamente después del sacrificio, está justificada una tasa de  $10^6$  ufc/ml porque recuentos por debajo de esa cantidad se consiguen con facilidad si se han seguido las Buenas Prácticas de Manufactura. (ICMSF, 1999)

La Comisión Europea (C.O.C.E, 2001, Decisión 471/2001/CE), el Servicio de Inspección y Protección de Alimentos (FSIS/USA) del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos; el Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) de Argentina en sus normas para el muestreo microbiológico de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en canales bovinas, para muestras tomadas por el método destructivo. Establecen tres categorías, (visualizadas como áreas) para la verificación del control del proceso: Aceptable, Dudosa e Inaceptable. Consideran como: Valores Aceptables, los  $< a 3.5 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Dudosos, los  $> a 3.5 \text{ Log ufc/cm}^2$  pero  $< a 5.0 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Inaceptables, los  $> a 5.0 \text{ Log ufc/cm}^2$ . El Servicio Agrario Ganadero (SAG) de Chile, para el mismo fin, considera los mismos valores, para muestras tomadas por ambos métodos: el método destructivo y por el método no destructivo (esponja). Como se aprecia en el Gráfico N°: 1 y en la Tabla N°: 1.

La transposición Inglesa de la Decisión 471/2001 (Secretary of State for Health, 2002), establece valores aceptables, dudosos e inaceptables para muestras tomadas mediante el método no destructivo (torundas o hisopos de algodón) Establecen tres categorías, (visualizadas como áreas) para la verificación del control del proceso: Aceptable, Dudosa e Inaceptable. Consideran como: Valores Aceptables, los  $< a 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Dudosos, los  $> a 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$  pero  $< a 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Inaceptables, los  $> a 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ . Como se aprecia en la Tabla N°: 2.

Los criterios microbiológicos para el método de hisopado en canales bovinas para el recuento de bacterias Aerobias mesofilas totales considerados en el Camal

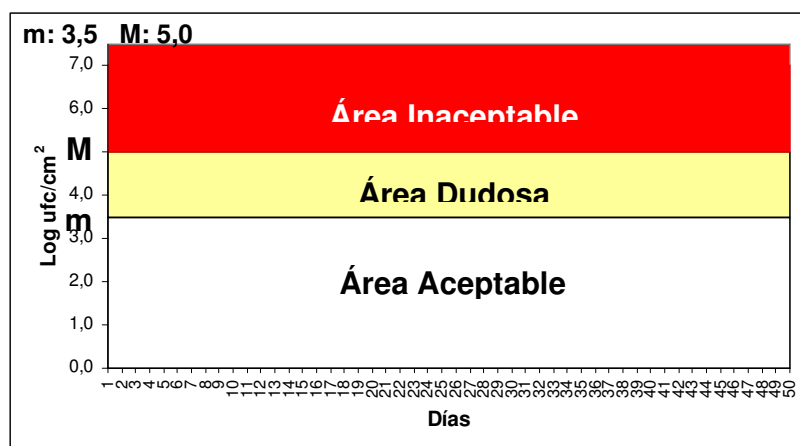
en el cual se desarrolló el estudio: Camal Frigorífico José Olaya, están basados en sus estudios internos, son los siguientes: Valores aceptables, los  $< 3.0 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores dudosos, los  $> 3.0$  y  $< 3.4$  y Valores inaceptables los  $> 3.4 \text{ Log ufc/cm}^2$ . (Ergoavil, Comunicación Personal).

Los métodos utilizados para el muestreo: destructivo y el no destructivo o hisopado, ambos tienen sus ventajas e inconvenientes: en el método destructivo predomina la sencillez y la rapidez de la técnica, aunque desde el punto de vista económico no es deseable la eliminación de laminas superficiales de la canal; en cuanto al método del hisopado, se suman una serie de factores como el uso de la plantilla de  $100 \text{ cm}^2$ , de los hisopos y mayor tiempo de muestreo. Los métodos de muestreo destructivos dan resultados superiores a los obtenidos por hisopado, lo cual ha sido demostrado en otros estudios. (Palumbo et al., 1999).

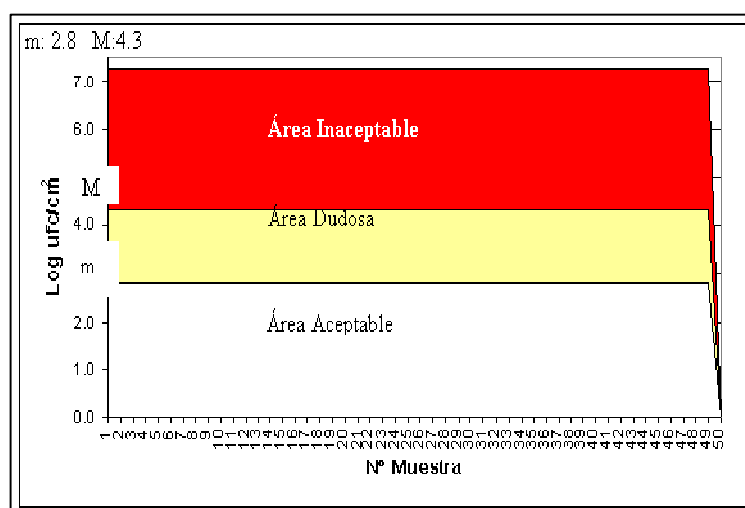
La técnica de hisopado recoge una proporción de la flora total presente en la superficie de la canal, con frecuencia del 20%. (C.O.D.E, 2001; FSIS/USA, 2001; SENASA/Argentina, 2004; SAG/Chile, 2001). Así también en estudios realizados por el método del hisopado en diferentes especies, se obtiene el 20% de la flora total. (Bell, 1997; Palumbo, 1999; Moreno, 2002). Esto se debe a que el método destructivo recoge aquellos microorganismos débil y fuertemente adheridos a la superficie de la canal, mientras el hisopado recoge únicamente aquellos microorganismos que están débilmente adheridos como cita Yu et al en 2001.

Según la legislación vigente (C.O.C.E, 2001), los métodos utilizados para el muestreo pueden ser tanto el método destructivo como el método de hisopado; y recomienda que cuando se empleen métodos distintos del destructivo, se establezca para el método aplicado, los criterios de contaminación bacteriana de modo que pueda cotejarse con el método destructivo. (Moreno en 2002).

**GRAFICO 1. Limites Microbiológicos para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en Canales Bovinas según la Legislación vigente por el método destructivo. (C.O.C.E, 2001; FSIS/USA, 2001; SENASA/Argentina, 2004; SAG/Chile, 2001).**



**GRAFICO 2. Limites Microbiológicos para Bacterias Aerobias Mesofilas Totales. Transposición Inglesa de la Decisión 471/2001 (Secretary of State for Health, 2002)**



**TABLA N° 1: Límites aceptables, dudosos e inaceptables de contaminación  
(expresados en ufc/cm<sup>2</sup>) muestras tomadas mediante el método destructivo. (C.O.C.E,  
2001)**

Parámetro	Valores aceptables		Valores dudosos (> <b>m</b> pero ≤ <b>M</b> )	Valores Inaceptables (> <b>M</b> )
	Bovinos/ Ovinos/ caprinos/ Equinos	Porcinos	Bovinos/porcinos/ Ovinos/caprinos/ Equinos	Bovinos/porcinos/ Ovinos/caprinos/ Equinos
Recuento Total de Colonias Aerobias	< 3.5 log	<4.0 log	<3.5 log (porcinos: <4.0 log)- 5.0 log	>5.0 log
Enterobacterias	<1.5 log	<2.0 log	1.5 log (porcinos:2.0 log)- 2.5 log (porcinos: 3.0 log)	>2.5 log (porcinos:>3.0 log)

**TABLA N° 2: Límites aceptables, dudosos e inaceptables de contaminación  
(expresados en ufc/cm<sup>2</sup>) muestras tomadas mediante el método no destructivo:  
hisopado o torundas de algodón. Transposición Inglesa de la Decisión 471/2001/CE.  
(Secretary of State for Health, 2002)**

Parámetro	Valores aceptables		Valores dudosos (> <b>m</b> pero ≤ <b>M</b> )	Valores Inaceptables (> <b>M</b> )
	Bovinos/ Ovinos/ caprinos/ Equinos	Porcinos	Bovinos/porcinos/ Ovinos/caprinos/ Equinos	Bovinos/porcinos/ Ovinos/caprinos/ Equinos
Recuento Total de Colonias Aerobias	< 2.8 log	<3.3 log	<2.8 log (porcinos: <3.3 log)- a 4.3 log	>4.3 log
Enterobacterias	<0.8 log	<1.3 log	0.8 log (porcinos:1.3 log)- 1.8 log (porcinos: 2.3 log)	>1.8 log (porcinos:>2.3 log)

## **2.9. MÉTODOS PARA LA NUMERACIÓN O RECuento DE MICROORGANISMOS EN LA CARNE.**

Los cuatro métodos básicos empleados para cuantificar la presencia de los microorganismos en la carne son los siguientes: Recuentos en placas, Método del Número Más Probable, Técnica de Reducción de Colorante, Recuento Microscópico Directo. En los Recuentos convencionales en placas, se mezclan y homogenizan porciones de muestras, se diluyen seriadamente, en un diluyente apropiado, se siembran en el espesor del medio que contiene la placa y éstas se incuban a una temperatura apropiada, durante un tiempo dado, transcurrido el cual se cuentan todas las colonias visibles. Este es el método más usado universalmente para determinar los números de células viables o de unidades formadoras de colonias en los productos alimenticios. Es el método de elección cuando las características de una colonia son importantes para su identificación selectiva; pero tiene el inconveniente de que cuando la superficie del agar no está lo suficientemente seca antes de sembrar la placa tiene lugar una superposición de colonias, lo que hace que resulte difícil su enumeración. (Jay, 2000).

En el método del agar salchicha, una jeringa de 100 ml se modifica para eliminar el extremo donde se acopla la aguja con el fin de crear un cilindro hueco que se llena de agar; por medio del émbolo, se impulsa una capa de agar más allá del borde del cuerpo de la jeringa y se presiona contra la superficie a examinar, se separa la capa de agar expuesta y se coloca en una placa petri luego se incuba y se cuenta las colonias; este método está limitado a aquellos casos en que el número de microorganismos contaminantes sea escaso. (Jay, 2000). En el método de la torunda (hisopado) y el arrastre por esponja, se preparan plantillas con aberturas que se correspondan con la extensión de la superficie, se restrega la zona expuesta con una torunda o esponja humedecida, éstas se introducen de nuevo en un envase que contiene un diluyente apropiado y se guardan a temperaturas de refrigeración hasta que se realice la siembra en placa; este método es más apropiado para superficies flexibles, irregulares y contaminadas. (Jay, 2000).

El método denominado Petrifilm, utiliza tiras de plástico secas, en el que 2 tiras de plástico se unen entre si por un solo lado y se recubren con los ingredientes de los medios de cultivo y un agente gelificante soluble en agua fría; el método se puede usar con ingredientes no selectivos para efectuar recuentos de bacterias aerobias en placa, mientras que con ingredientes selectivos se pueden detectar algunos grupos bacterianos específicos; es una alternativa aceptable a los métodos convencionales de recuento en placa. Las Placas Petrifilm Recuento de Aerobios Mesofilos Totales ® constituyen un sistema listo para usar que contiene además un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias. (Amer, L., De Bautista, G. 2000).

Existen numerosos estudios que demuestran la validez y eficacia de las placas petrifilm ® para el análisis microbiológico de los alimentos (Ginn et al, 1984; Nelson et al, 1984; Smith et al, 1985; Curiale et al 1990) incluyendo carne y productos cárnicos (Wilkins et al, 1996; Linton et al, 1997). Las placas Petrifilm para Recuento de aerobios mesofilos totales® tienen certificaciones de calidad por Asociación Oficial de Análisis de Alimentos (AOAC 991.14), Asociación Francesa de Normalización (AFNOR CERT. N° 3M 01/1-09/89), Metodologías Oficiales del Gobierno Canadiense (MFHPB-33/), Comité Nórdico de Análisis de Alimentos (NMKL 147.1993), USA-FSIS: Pathogen HACCP Final Rule. (Wallace, 1995 a; Wallace, 1995 b). Se eligió esta técnica por su sencillez, eliminación de la preparación de los medios de cultivo, mejor visualización de las colonias en menor tiempo y costo.

## **2.10. TÉCNICAS PARA MEJORAR LA CALIDAD HIGIÉNICA DE LA CARNE.**

En los sistemas convencionales de conservación de las canales, se ha utilizado la refrigeración a temperaturas de -2 a 0°C y humedad relativa del 90 %, pero los costos de refrigeración han ido en aumento y tampoco ha sido la solución definitiva para evitar la contaminación de la carne. (Feldman, 2003; Bavera, 1998). El uso de soluciones antisépticas es una manera fácil y económica de disminuir la carga bacteriana de las canales y disminuir el tiempo de refrigeración,



consiste en aplicar soluciones antisépticas a las canales en la misma línea de faenado. Actualmente se esta implementando en la misma línea de faenado sistemas de pasteurización por medio de vapor que se aplica sobre la superficie antes de ser llevadas a los cuartos de refrigeración. (Rodriguez, 2000; Herrera, 1992).

En la descontaminación de las carcasas se utiliza los ácidos orgánicos; y/o agua caliente es cada vez más aplicada como intervenciones secuenciales para la descontaminación de la carne (Stopforth et al, 2003). Estos sistemas que evitan la contaminación de las canales disminuyen la urgencia de su almacenamiento en cuartos fríos con lo cual se puede mantener a medio ambiente por un tiempo más prolongado facilitando la acción temprana de las enzimas proteolíticas; esto reduce el tiempo de refrigeración y mejora la ternura de la carne. El empaque al vacío consiste en la utilización de bolsas contráctiles a las que después de empacada la carne se extrae el aire con maquinas de hacer vacío, luego se cierran mediante el calor y se contraen en recipientes de agua a temperaturas entre 80 a 90 °C por un tiempo de 1 a 2 segundos. Se realiza transcurrida la fase de rigor mortis (24 horas en bovinos): generalmente se empacan los cortes de mejor calidad: lomos, cadera y pierna los que se almacenan en cuartos de refrigeración para ser madurados hasta por seis semanas. (López., J., 2000)

La estimulación eléctrica consiste en la aplicación de una corriente de más o menos 600 voltios por 15 segundos a las canales de carne, 45 a 60 minutos después del sacrificio y en la misma línea de faenado; este impulso de alta intensidad, provoca una reacción en cadena traducida por una glucólisis acelerada que permite el agotamiento temprano del ATP por lo cual se instaura el rigor mortis enseguida, esto favorece el descenso rápido del PH muscular controlando el crecimiento microbiano. (Sánchez, G. L., 2000).

### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. LUGAR DE ESTUDIO.**

El trabajo se realizó en el Camal Frigorífico José Olaya SAC., ubicado en el Kilómetro 18.5 de la Panamericana Sur, distrito de Chorrillos, Lima Metropolitana, en el departamento de Lima. Entre los meses de octubre y noviembre del 2004

#### **3.2. ANIMALES.**

Se utilizaron animales bovinos, procedentes de centros de engorde, cuyas edades fluctuaban entre 15 a 30 meses de edad. Todas las canales fueron inspeccionadas y aprobadas por el inspector Veterinario.

#### **3.3. PROCEDIMIENTOS GENERALES DE SACRIFICIO.**

El sacrificio se llevó a cabo de acuerdo al sistema normal y convencional de faenado, el cual incluye aturdimiento, degüello, desollado, eviscerado, hendido, retoque y lavado final antes del oreo.

### **3.4. MATERIALES Y EQUIPOS.**

#### **3.4.1. EN LA TOMA DE MUESTRAS.**

- Guantes.
- Recipiente isotérmico (Cooler).
- Hisopos de algodón, secos y húmedos (Anexo N°: 1).
- Bolsas estériles.
- Marcos estériles. (Anexo N°: 2).
- Agua destilada.
- Diluyente para diluciones: Solución de peptona 0.1% y cloruro de sodio al 0.85%.

#### **3.4.2. EN EL LABORATORIO.**

- Autoclave.
- Estufa de Incubación.
- Refrigerador.
- Placas Petrifilm Recuento Aerobios Mesófilos ®.
- Pipetas Bacteriológicas de 1ml y 5 ml.
- Solución de peptona 0.1% y cloruro de sodio 0.9%.

### **3.5. TAMAÑO DE LA MUESTRA POBLACIONAL.**

Como el Teorema del Límite Central afirma que la precisión de la muestra mejora al crecer  $n$  (tamaño muestral), y en el caso de valores grandes de  $N$  (población), viene a ser igual o mayor a 30. (Spiegel, 1991), se decidió establecer 30 animales como tamaño de la muestra.

### **3.6. CARACTERISTICAS DEL MUESTREO CÁRNICO.**

El muestreo para cultivo microbiano en el presente estudio fue tomado mediante hisopado de la superficie externa de cada canal de la muestra.

#### **3.6.1. LUGARES DE MUESTREO.**

Se muestreó la superficie externa de cada uno de las siguientes áreas:

<b>Área N° 1:</b>	CADERA
<b>Área N° 2:</b>	FALDA
<b>Área N° 3:</b>	PECHO
<b>Área N° 4:</b>	CUELLO

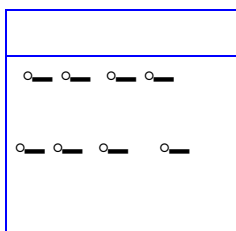
### **3.6.2. TOMA DE MUESTRA.**

La toma de muestra se realizó durante el oreo y antes de la conservación en frío y a una temperatura ambiental de 18 °C, un día por semana, en días alternos durante 4 semanas. Se utilizó el Método no Destructivo de hisopado, como se describe a continuación: se realizó el hisopado de la superficie externa de las siguientes regiones de la canal: cuello, pecho, falda y cadera. (Anexo N°: 1). En cada una de las regiones, el área hisopada fué de 100 cm<sup>2</sup>. Dicha área fué delimitada con un marco estéril de 10 cm. X 10 cm. (Anexo N°: 2). (Fotografías N°: 6, 7, 8 y 9).

Se utilizaron dos hisopos de algodón estériles para la toma de muestra de cada área. El primer hisopo fué humedecido en la solución de peptona 0.1% y cloruro de sodio 0.85%, durante 5 segundos, (diluyente recomendado por la NTP ISO 3100-2). Luego de escurrirlo, se frotó el área de muestreo en varios sentidos: vertical, horizontal y diagonal, durante 20 segundos para concluir rompiendo la cabeza del hisopo en el interior de una bolsa de polietileno estéril. (Fotografía N°: 10). Luego la misma área se frotó con un segundo hisopo seco, el cual se rompió también en la bolsa de polietileno. Una vez que las muestras fueron tomadas en el Camal, se transportaron al Laboratorio del mismo. Se utilizó un total de 8 hisopos por canal: 4 húmedos y 4 secos; todos se colocaron en la bolsa estéril y se agregó 100 ml del diluyente (solución acuosa de peptona 0.1 % y cloruro de sodio 0.9 %) y se homogenizó durante 2 minutos (ICSMF, 1999), quedando así constituida la dilución primaria. (Grafico N°: 3).

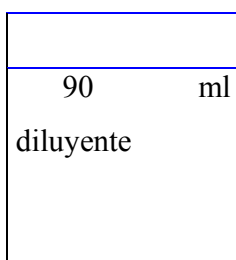
### GRAFICO N° 3. Preparación de las Diluciones a partir de la Dilución primaria

**Dilución Primaria:** 100 ml de diluyente + la muestra (8 hisopos)



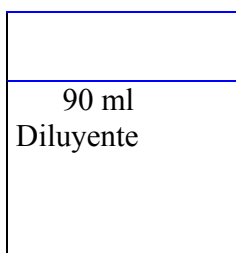
↓ **10 ml** (se extrae 10 ml y se lleva a la siguiente bolsa)

**Primera Dilución:**  $10^{-2}$



↓ **10 ml** (se extrae 10 ml y se lleva a la siguiente bolsa)

**Segunda Dilución:**  $10^{-3}$



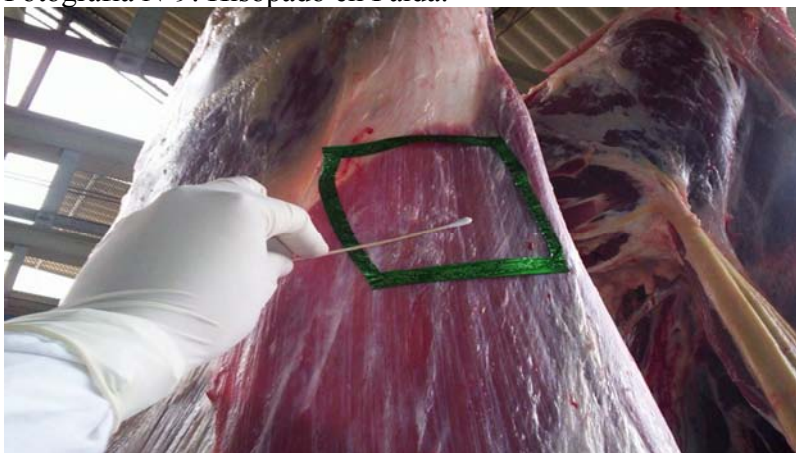
Fotografía N°7: Hisopado en Pecho.



Fotografía N°8: Hisopado en Cadera.



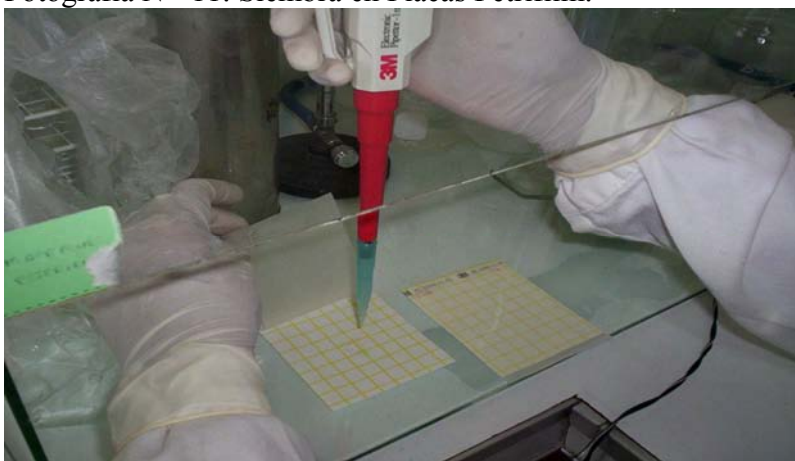
Fotografía N°9: Hisopado en Falda.



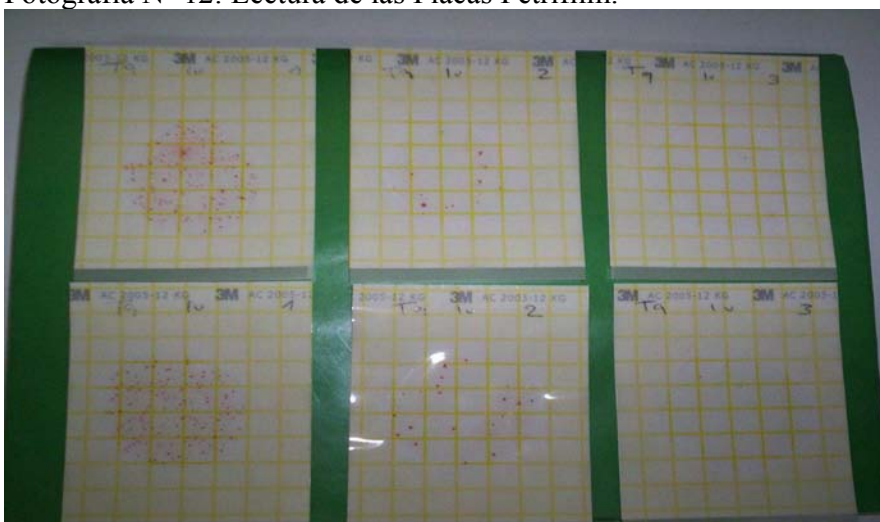
Fotografía N° 10: Recolección de las muestras.



Fotografía N° 11: Siembra en Placas Petrifilm.



Fotografía N° 12: Lectura de las Placas Petrifilm.



### 3.7. PREPARACION DE LA MUESTRA Y CULTIVO MICROBIANO.

A partir de la dilución primaria se prepararon otras diluciones decimales ( $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ ). Luego se inoculó 1 ml, de cada dilución a dos Placas Petrifilm Recuento de Aerobios Mesofilos Totales ®. (Fotografía N°: 11). Luego se incubaron las Placas Petrifilm durante 48 horas + 3 horas a  $35^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  en una estufa de incubación. Para comprobar la constancia y uniformidad de la temperatura interior en la estufa se realizaron mediciones de la temperatura a las 4 (A) y 24 horas (B) post siembra, utilizando termómetros adecuados (Anexo N°: 5).

Para controlar la esterilidad del diluyente, se sembró éste en la placa Petrifilm. Transcurrido el periodo de incubación, el número de colonias presentes en estas placas resultó no mayor de una unidad. Transcurridas las 48 horas de incubación se hizo el conteo de las colonias. Se contó todas las colonias rojas, independientemente de su tamaño o intensidad de color, en las dos placas de cada dilución (Primera Dilución o  $10^{-2}$  y Segunda Dilución ó  $10^{-3}$ ). (Fotografía N°: 12)

### 3.8. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS.

#### 3.8.1. Cálculo del número de microorganismos /ml o número de colonias por ml.

En cada dilución, el cálculo de los resultados (numero de microorganismos/ml), se determinó aplicando la formula indicada en la norma ISO 22:93:1998, como sigue:

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1 \times n_2) d}$$

N = Número de microorganismos por mililitro.

$\sum c$ =Es la suma de colonias contadas en todas las placas de todas las diluciones.

$N_1$ =Es el numero de placas sembrada con la primera dilución.

$n_2$ =Es el numero de placas sembradas con la segunda dilución

d =Es el factor de dilución correspondiente a la primera dilución.



### **3.8.2. Cálculo del número de microorganismos por cada canal investigada.**

Para calcular el número de microorganismos por canal se utilizó la siguiente fórmula:

$$\begin{aligned} & \text{N}^\circ \text{ ufc/ml} \times 100 \text{ (ml de diluyente)} / 400 \text{ cm}^2 \text{ de superficie hisopada} = \\ & = \text{N}^\circ \text{ ufc} / 4 \text{ cm}^2 = \text{N}^\circ \text{ ufc/cm}^2. \end{aligned}$$

### **3.8.3. Expresión de los Resultados.**

Para expresar los resultados, debido a que los recuentos bacterianos se caracterizan por presentar una distribución asimétrica y que uno de los modelos de distribución que describen las formas asimétricas es la distribución logarítmica, el número de microorganismos hallado, en cada caso, fue transformado a su Logaritmo (Log). En este nuevo modelo basado en los logaritmos, los valores siguen una distribución normal y podrán ser tratados como tales, facilitando su contrastación (SENASA, 2003; Mcallister et al, 1988; Marner et al 1990; Guthrie et al, 1994; Tesse et al, 2000).

## **4. Análisis de datos.**

Los datos obtenidos fueron evaluados individualmente, contrastándolos con los siguientes criterios de contaminación: Valores Aceptables,  $< 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Dudosos,  $> 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$  pero  $< 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; Valores Inaceptables, los  $> 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ , (Transposición Inglesa de la Decisión 471/2001/CE para muestras tomadas por el método no destructivo de hisopado). Estos datos también fueron contrastados con el límite microbiológico para Canales bovinas para el Recuento de Aerobios Mesofilos Totales aprobados por la Norma Técnica Peruana (NTP 201.055, 2003) y por la Comisión Internacional Microbiológica para Alimentos (ICSMF), que ambos señalan como Límite Aceptable: los  $< 10^6 \text{ ufc/ml}$ .

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

El numero de colonias contadas para cada una de las diluciones: Primera ( $10^{-2}$ ) y Segunda ( $10^{-3}$ ), en cada caso, se presentan en el Cuadro N°: 1. Los rangos varían de 0 a 900 y de 0 a 246 colonias, para cada dilución respectivamente. El cálculo del número de microorganismos/ml para cada una de las muestras, se presenta en el Cuadro N°: 2. Los valores varían de 364 a 99091 microorganismos/ml. El Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en ufc/cm<sup>2</sup> se presentan en el Cuadro 3. Los resultados varían de 91 a 24773 ufc/cm<sup>2</sup>. Finalmente los resultados sobre el número de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en Log ufc/cm<sup>2</sup> se presentan en el Cuadro N°: 4, en él se aprecian valores que van desde 1.95 a 4.39 Log ufc/cm<sup>2</sup>, los que corresponden a las muestras No: 23 y No: 22 respectivamente; como se ve en el Grafico N°: 4. Siendo la media aritmética 3.04 Log ufc/cm<sup>2</sup>, la Desviación Estándar S: 0.55 y el Coeficiente de Variación CV: 18.58.

Estos resultados (Cuadro N°: 2) fueron contrastados con el límite microbiológico para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en Canales bovinas aprobados por la Norma Técnica Peruana (NTP 201.055 2003) y por la Comisión Internacional Microbiológica para Alimentos (ICSMF). Apreciándose que todas las muestras estuvieron dentro del Limite Aceptable. Cabe señalar que este limite de aceptabilidad aprobado por la Norma Técnica Peruana (aceptables: los  $< 10^6$  ufc/ml, corresponde a  $5.4 \text{ Log ufc/cm}^2$ ), el cual es demasiado benévolo a comparación de las normas internacionales actuales y que además en la NTP referida a la calidad higiénica de canales bovinas, no menciona métodos de muestreo, características del muestreo cárnico, cultivo microbiano, ni tampoco cálculo de los resultados recomendados o que se puedan relacionar a ese limite de aceptabilidad.

Conviene recordar que la técnica del hisopado recoge una proporción de la flora total presente en la superficie de la canal, con frecuencia del 20%. (C.O.C.E, 2001; FSIS/USA, 2001; SENASA/Argentina, 2004; SAG/Chile, 2001). Así también en estudios realizados por la técnica del hisopado en diferentes especies, se obtiene el 20% de la flora total. (Bell, 1997; Palumbo, 1999; Moreno, 2002). Lo cual se debería a que el método destructivo recoge aquellos microorganismos que están débil y fuertemente adheridos a la superficie de la canal, mientras el hisopado recoge únicamente aquellos microorganismos que están débilmente adheridos como cita Yu y colaboradores en el 2001. En el camal Camal frigorífico José Olaya, donde se realizó el presente estudio manejan sus propios criterios de aceptabilidad para el método del hisopado, basados en sus estudios internos y en la literatura actual, establecen las categorías: aceptables, las  $< 3.0 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; dudosas, los  $> 3.0$  y  $< 3.4$ ; e inaceptables, los  $> 3.4 \text{ Log ufc/cm}^2$ . (Ergoavil, Comunicación Personal).

Contrastando los resultados obtenidos en el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales con los límites definidos para el presente trabajo, se encontró que de las 30 muestras, el 43.33% de ellas, es decir 13 tuvieron valores aceptables  $< 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$ , el 53.3% de ellas, es decir 16 muestras tuvieron valores dudosos,  $> 2.8 \text{ Log ufc/cm}^2$  pero  $< 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$  y el 3.3% de ellas, es decir 1 muestra tuvo valor inaceptable,  $> 4.3 \text{ Log ufc/cm}^2$ . (Grafico N°: 5). El Recuento de Aerobios Mesofilos indica el grado de

contaminación global en relación a la higiene del procesado de los animales. Las causas de los resultados dudosos e inaceptables se deben posiblemente a la falta de estandarización, malas prácticas de producción u obtención, análisis de procedimientos o instrucciones (inexistentes o insuficientes), los cuales no fueron motivo del presente estudio.

El promedio del Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales para canales bovinas obtenido en este estudio ( $3.04 \text{ Log ufc/cm}^2$ ), es mayor al promedio obtenido en los siguientes estudios: al de Nortje y Naude en Brasil, 1981 por la técnica de la salchicha artificial en que encontró un valor de  $2.9 \text{ Log ufc/cm}^2$ . Al de Jardim en Brasil en 2004, mediante el hisopado halló  $2.1 \text{ Log ufc/cm}^2$ , y al estudio de Phillips en 2001, en que evaluó la calidad de la carne bovina Australiana por el método de la esponja y halló una media de  $2.42 \text{ Log ufc/cm}^2$ . Asimismo el promedio obtenido en el presente estudio es menor a los promedios obtenidos por Fernández Gines y colaboradores en 2004 por el método de hisopado en un matadero Español en que obtuvieron una media de  $3.71 \text{ Log ufc/cm}^2$ ; y de Godínez y colaboradores en rastros de Hidalgo (México) en 2003 por frotado con gasa, hallando una media de  $4.5 \text{ Log ufc/cm}^2$ .

Las diferencias obtenidas utilizando el método de hisopado deben ser debidas a la diferente forma de obtener las muestras. Por lo tanto la técnica de muestreo debe estar normalizada y debe llevarse a cabo siempre del mismo modo.

Dada la simplicidad, la técnica del hisopado es la que comúnmente se emplea en los trabajos de rutina, se debe cuidar el ángulo y la presión aplicados al hisopo; el material del que esta confeccionado un dispositivo de muestreo, debe estudiarse con mucho cuidado pues también influiría en los resultados. En el frotado con trozos de algodón, aparentemente la acción manual ejercida sobre éstos, es mayor y más efectiva que la ejercida sobre un palillo. Quedaría abierta la posibilidad de analizar esta técnica.

**CUADRO N° 1: Número de colonias contadas para la Primera Dilución ( $10^{-2}$ ) y Segunda Dilución ( $10^{-3}$ ).**

M	Dil	N	M	Dil	N	M	Dil	N	M	Dil	N	M	Dil	N
M1	$10^{-2}$	19 16	M8	$10^{-3}$	4 1	M14	$10^{-2}$	30 30	M21	$10^{-3}$	18 100	M27	$10^{-2}$	58 50
	$10^{-3}$	5 3		$10^{-2}$	72 44		$10^{-3}$	3 8		$10^{-2}$	370 200		$10^{-3}$	61 45
M2	$10^{-2}$	21 20	M9	$10^{-3}$	7 10	M15	$10^{-2}$	13 14	M22	$10^{-3}$	149 135	M28	$10^{-2}$	12 17
	$10^{-3}$	5 3		$10^{-2}$	24 18		$10^{-3}$	1 1		$10^{-2}$	900 800		$10^{-3}$	4 1
M3	$10^{-2}$	55 58	M10	$10^{-3}$	2 2	M16	$10^{-2}$	51 46	M23	$10^{-3}$	234 246	M29	$10^{-2}$	123 120
	$10^{-3}$	14 9		$10^{-2}$	7 9		$10^{-3}$	8 2		$10^{-2}$	0 3		$10^{-3}$	25 30
M4	$10^{-2}$	9 6	M11	$10^{-3}$	5 3	M17	$10^{-2}$	29 18	M24	$10^{-3}$	3 2	M30	$10^{-2}$	115 110
	$10^{-3}$	0 0		$10^{-2}$	16 23		$10^{-3}$	3 4		$10^{-2}$	51 46		$10^{-3}$	11 10
M5	$10^{-2}$	14 10	M12	$10^{-3}$	3 2	M18	$10^{-2}$	5 4	M25	$10^{-3}$	8 2			
	$10^{-3}$	1 2		$10^{-2}$	70 71		$10^{-3}$	0 0		$10^{-2}$	44 32			
M6	$10^{-2}$	23 29	M13	$10^{-3}$	10 13	M19	$10^{-2}$	30 26	M26	$10^{-3}$	5 2			
	$10^{-3}$	7 2		$10^{-2}$	31 32		$10^{-3}$	27 27		$10^{-2}$	79 73			
M7	$10^{-2}$	9 9		$10^{-3}$	6 5	M20	$10^{-2}$	420		$10^{-3}$	7 3			

Donde: M: Número de Muestras.

Dil: Número de diluciones.

N: Número de microorganismos por ml.

**CUADRO N° 2. Cálculo del No de microorganismos /ml.**

N° M	ufc/ml	N° M	ufc/ml	N° M	ufc/ml	N° M	ufc/ml
M1	1955	M9	2091	M17	2455	M25	3773
M2	2227	M10	1091	M18	409	M26	7364
M3	6182	M11	2000	M19	5000	M27	9727
M4	682	M12	7455	M20	31409	M28	1545
M5	1227	M13	3364	M21	38818	M29	13545
M6	2773	M14	3227	M22	99090	M30	11182
M7	1045	M15	1318	M23	364		
M8	6045	M16	4864	M24	4864		

Donde: N° M: Número de Muestras.

Ufc/ml: unidades formadoras de colonias por ml.

**CUADRO N° 3. Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en ufc/cm<sup>2</sup>.**

N° M	ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	ufc/cm <sup>2</sup>
M1	489	M9	523	M17	614	M25	943
M2	557	M10	273	M18	102	M26	1841
M3	1545	M11	500	M19	1250	M27	2432
M4	170	M12	1864	M20	7852	M28	386
M5	307	M13	841	M21	9705	M29	336
M6	693	M14	807	M22	24773	M30	2795
M7	261	M15	329	M23	91		
M8	1511	M16	1216	M24	1216		

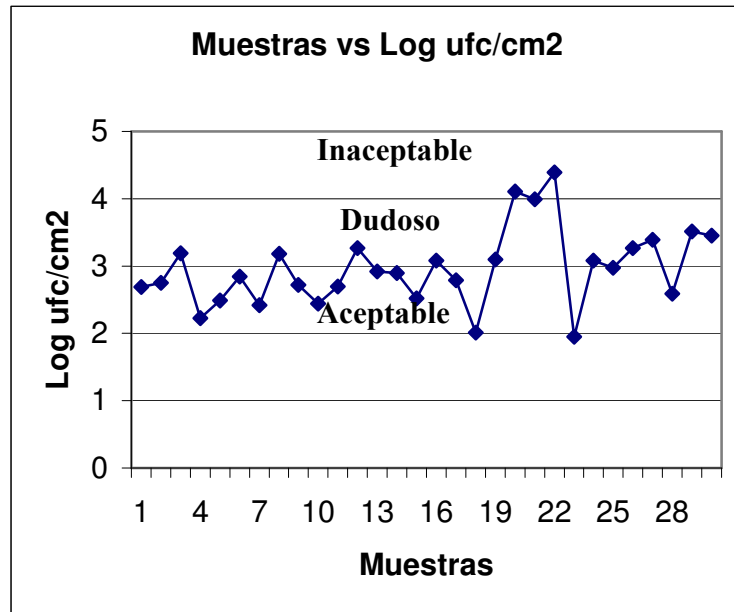
Donde: N° M: Número de Muestras.  
ufc/cm<sup>2</sup>: unidades formadoras de colonias por cm<sup>2</sup>.

**CUADRO N° 4: Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales expresadas en Log de ufc/cm<sup>2</sup>.**

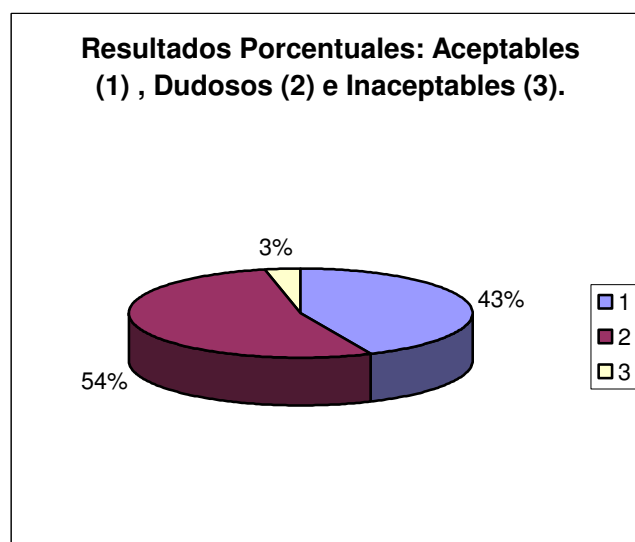
N° M	Log ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	Log ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	Log ufc/cm <sup>2</sup>	N° M	Log ufc/cm <sup>2</sup>
M1	2.69	M9	2.72	M17	2.79	M25	2.97
M2	2.75	M10	2.44	M18	2.01	M26	3.27
M3	3.19	M11	2.70	M19	3.10	M27	3.39
M4	2.23	M12	3.27	M20	4.11	M28	2.59
M5	2.49	M13	2.92	M21	3.99	M29	3.51
M6	2.84	M14	2.90	M22	4.39	M30	3.45
M7	2.42	M15	2.52	M23	1.95		
M8	3.18	M16	3.08	M24	3.08		

Donde: N° M: Número de Muestras.  
Log. ufc/cm<sup>2</sup>: unidades formadoras de colonias por Log cm<sup>2</sup>.

**GRÁFICO N° 4: Expresión de los resultados en Log ufc/cm<sup>2</sup>.**



**GRAFICO 5: Resultados Porcentuales para Bacterias Aerobias Mesofilas Totales en Canales Bovinas.**



## **V. CONCLUSIONES**

El promedio de los resultados obtenidos en el Recuento de Bacterias Aerobias mesofilas totales en canales bovinas fue de 3.04 Log ufc/cm<sup>2</sup>, valor que se encuentra dentro de los límites aceptables aprobado por la Norma Técnica Peruana y por la Comisión Internacional Microbiológica para Alimentos.

Contrastando los resultados obtenidos con los límites microbiológicos para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales por el método del hisopado definidos en el presente trabajo, se encontró que el 43.33 % de las muestras corresponderían a Valores Aceptables; el 53.30 % a Valores dudosos, el 3.3 % a Valores inaceptables.



## **V. RECOMENDACIONES**

Los camales deben poseer un programa de control microbiológico de procesos el cual debe tener un plan que incluya cuatro aspectos: el muestreo de superficie de equipos y utensilios que tienen contacto directo con el producto inmediatamente post aseo y desinfección, el control de manipuladores, la toma permanente de muestras de agua y productos.

Las Normas Técnicas Peruanas referidas a las características microbiológicas que deben tener las canales bovinas, deben reducir límite de aceptabilidad para el Recuento de Bacterias Aerobias Mesofilas Totales teniendo presente normas, alcances internacionales así como el presente estudio.

La estandarización de los métodos de muestreo, con el objetivo de que sean comparables es necesaria para conseguir que los resultados obtenidos sean utilizados como herramienta.

## **VI. BIBLIOGRAFIA**

- 1. Amer. L., De Battista, G. Medvedeff, M., Bargardi, S. 2000.** Evaluation of Petrifilm method for total mesophyllic microorganismos count determination in vegetable drugs. *Ars Pharmaceutica*. 41: 383-386.
- 2. Apple, J.K.; Dikeman, M. E.; Minton, J. E.; McMurphy, R. M.; Fedde, M.R.; Leigh, D. E.; Unruh, J. A. 1995.** Effects of restrain and isolation stress an epidural blockade on endocrine an blood metabolite status, muscle glycogen metabolism, and indice of dark – cutting longissimus muscle of sheep. *Journal of animal science*.73:2295–2307.
- 3. Barteles. H. 1980.** Inspección Veterinaria de las carnes. 1ª Ed., p. 396- 402. Editorial Acribia. España.
- 4. Bell, R. G. 1997.** Distribution and sources of microbial contamination on beef carcasses. *Journal of applied Microbiology, Oxford*. 82:292-300.
- 5. Belk K. E. 2001.** Asociación De los Cattlemen Nacionales. Descontaminación técnica de de la carne de vaca. Disponible en [WWW.carne de vaca.org](http://WWW.carne de vaca.org).

6. **Bermejo, A. 2000.** El matadero: centro de control higiénico de la carne. 1ª ed p 225-230. Editorial Ayala. Madrid.
7. **Borie, P. C., 1996.** Algunas Consideraciones sobre la Bacteria de la Carne. Laboratorio de Microbiología Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Tecnovet. 2:23-43. Chile.
8. **Bouton, P. E., Harris, P. V., Shorthose, W. R. 1971.** Effect of ultimate PH upon the water – holding capacity and tenderness of mutton. Journal of food science.36:435–439.
9. **Camacho, R. R.; Piernavieja, J.; Gonzáles, S.; Rojas, C. 1982.** Sacrificio y Mataderos de ganado. Ministerio de Agricultura. Instituto Colombiano Agropecuario. p.172-180. Colombia.
10. **Carballo, B.; Madrid, V.; López de la Torre. 2001.** Tecnología de la carne y de los productos cárnicos.1ª Edición. p. 98-108. AMV. Ediciones. España.
11. **Castillo, A; Dickson, J.S.; Clayton, R.P.; Lucia, L.M.; Acuff, G.R. 1998.** Chemical dehairing of bovine skin to reduce pathogenic bacteria and bacteria of fecal origin. Journal of Food Protection, Des Moines.61:623-625.
12. **Castro A. 2002.** Las Enfermedades Transmitidas por los Alimentos en Cuba. Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Sesión higiene de los alimentos. Memorias 18<sup>vo</sup>, 18-22 noviembre. La Habana. Cuba.
13. **Curiale, M. S.; Sons, T.; McAllister, B.; Halsey, B.; G. Fox, T.L. 1990.** Dry rehydratable film for enumeration of total aerobic bacteria in foods: Collaborative study. Journal of Association Anal Chem. 73:242-248.
14. **DIGESA. 2003.** Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de consumo Humano. Diario El peruano: Normas legales. Lima.
15. **D.O.D.E. 2001.** Decisión de la Comisión del 8 de junio de 2001 por la que se establecen Normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos. Diario oficial de las Comunidades Europeas. N° L165:48-53.
16. **Ergoavil, E. 2005.** Comunicación personal. Departamento de Aseguramiento de Calidad en planta de faena en Camal Frigorífico José Olaya. Lima.

17. **Fehlhaber, K. F. 1995.** Higiene Veterinaria de los Alimentos. 2da Ed. p.229–233. Editorial Acribia. España.
18. **Feldman, P. 2003.** La Llave Sanitaria: Buenas Prácticas de Manufactura. Área de capacitación del programa de calidad de los alimentos de la Dirección Nacional de Alimentación. Revista Americarne. Córdoba 5: 40-45.
19. **Fernández, J. A.; Quiñónez, J. 2003.** Diseño del Sistema HACCP para el proceso de producción de carne bovina para consumo. Revista Colombiana Ciencias Pecuarias. Colombia 16: 1-47.
20. **Fernandez-Gines, J.M.; Saez-Plana, F.; Fernandez-López, J.; Sayas-Barbera, M.E.; Sendra, E. ; Pérez-Alvarez, J.A. 2004.-** Aplicación de la Microbiología rápida como alternativa al muestreo bacteriológico en matadero: evaluación sobre canales de porcino. En Eurocarne. España 123:10-15.
21. **Forrest, J. 1979.** Fundamentos de la ciencia de la carne. 4ta ed. p.125–127. Editorial Acribia. España.
22. **Gallo, Carmen. 1980.** Manejo y Faenamiento en animales de Abasto. Conferencia presentada en el Seminario de la Carne. (SNA- FISA). Santiago de Chile.
23. **USA-FSIS. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos - Servicio de Inspección y Protección de alimentos. 2001.** Manual de Reducción de Patógenos. Comisión 2001/471/CE.
24. **Gill, C. O. 1976.** Substrate limitation of Bacterial growth at meta surfaces. J. Appl. Bacteriol., London. 41: 401-410.
25. **Gill, C. O., Penney. 1977.** Penetration of bacteria into mest. Appl. Environ. Microbiol., Washington 37:1284-1286.
26. **Gill, C. O., Penney, N. 1982.** Bacterial penetration of muscle tissue. J. Food Sci. Chicago 42:690-692.
27. **Gill, C. O., Leet, N. G., Penney, N. 1984.** Structural changes developing with rigor that facilitate bacterial invasión of muscle tissue. Meat Sci., Barking 10: 265- 274.
28. **Ginn, R. E.; Packard, V.S.; Fox, T.L. 1984.** Evaluation of the 3M dry medium culture plate (Petrifilm) method for determinig numbers of bacteria in raw milk. Journal of Protecction.47: 75 -87.

- 29. Godínez G., Reyes J.A., Zúñiga A., Sánchez I., Castro, J., Román A.D., Santos E.M. 2003.** Condiciones Microbiológicas en Cuatro Rastros Municipales del Estado de Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- 30. Hayes, P. R. 1993.** Microbiología de los Alimentos. 3º Ed. p 70-87. Editorial Acribia. Zaragoza
- 31. Herrera, J.G.; Villamil, J. 1992.** Inspección e Higiene de Carnes. Fondo Nacional Universitario. Santafé de Bogota.
- 32. Hobbs, B.; Roberts, D., 1997.** Higiene y Toxicología de los Alimentos. 4 ta Ed. p 106-145. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 33. International Commission Microbiological Specifications for Foods. ICSMF. of the International Societiis. 1998.** Microbiología de los Alimentos. Ecología Microbiana de los productos Alimentarios. 3re Ed. p. 1-29. Editorial University of Toronto Press.
- 34. International Commission Microbiological Specifications for Foods ICSMF.1999** Microbiología de los Alimentos. Su Significado y Métodos de Enumeración. 2da Edición. p. 3-8, 117-129 Editorial University of Toronto Press.
- 35. International Commission Microbiological Specifications for Foods. ICSMF. 1996** Microbiología de los Alimentos. Características de los Patógenos Microbianos. p. 579-589. Editorial University of Toronto Press.
- 36. Ingram, M. 1972.** Meat preservation, past, present and future. R Soc. Health J., London, 92:121-130.
- 37. Jay, J. 2002.** Microbiología Moderna de los Alimentos. Tercera Edición. P. 804. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 38. Jardim, F. B. B; Silva, E. N.; Ramos, M .A. 2004.** Contagem de Microorganismos em carcaças bovinas no abate. Facultades Asociadas de Uberaba. Faculdade de Engenharia de Alimentos. 1:21-27. Brasil.
- 39. Jericho, K et al. 1998.** Verification of the hygiene adequacy of beef carcass cooling processes by microbiological culture and teh temperature-function integration tecnhique. Journal of food protection. 61: 1347-1351.
- 40. Koneman, E.W. 1970.** Postmortem Bacteriology. Crit. Rev. Clin. Lab. Sci., Boca Raton. 1: 5-23.

- 41. Kriaa, H., et al. 1985.** Contamination and bacterial retention capacity of beef carcasses at the abattoir. J. Appl. Bacteriol., London. 59: 23-28.
- 42. Ladeulina, F. F. 2002.** HACCP y Análisis de Riesgos como objetivos de Inocuidad de los Alimentos. Centro Nacional de Higiene de los Alimentos. Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, Memorias 18. p.18 – 22 noviembre. La Habana. Cuba.
- 43. Lahr, J. A. 1996.** Beef carcass microbial contamination: post slaughter numbers of bacteria, sources of contamination and variability of data. In: Proceedings of the Reciprocal meat Conference. 49: 132-137. Kansas.
- 44. Latre, M. V.; Lara, C.; Cubero, G.; Rodríguez, A. A.; 1997.** Puntos críticos a considerar como fuentes de contaminación bacteriológica de canales en mataderos. Alimentaria. Abril: 33-36.
- 45. Lawrie, R. 1998.** Ciencia de la carne. Tercera Edición. P. 114-116. Editorial Acribia. España.
- 46. Linton, R. H.; Eisel, W.G.; Muriana, P.M. 1997.** Comparison of conventional plating methods and Petri film for the recovery of microorganisms in a ground beef processing facility. Journal of Food Protection, 60: 1084-21088.
- 47. Locati, G.A.; 1982.** La Técnica del Hisopado en la Industria Cárnica. Limitaciones y comparaciones otras técnicas de muestreo no destructivas. Tesis presentada para magíster en Scientiae en Ciencia y Tecnología de los Alimentos. Universidad del Mar del Plata, Buenos Aires. 56 p.
- 48. López, H. J. 2000.** Empaque de Carnes en condiciones de Atmósferas Modificadas. En curso: Inspección Sanitario de la Carne. Abril 25- Mayo 22. Santafé de Bogota.
- 49. McAllister, J. S.; Stadtherr, M. P.; Fox, T. L. 1988.** Evaluation of 3M Petrifilm™ culture plate method for enumerating aerobic flora and coliforms in poultry processing facilities. Journal. Food Protection, 51: 658-659.
- 50. Marsden, J. L. & Henrickson R. L. et al. 1994.** Tecnología de los alimentos congelados. 1ª Edición en Español. p.202 - 228. A. Madrid Vicente Ediciones. Madrid.

- 51. Mead, G. C. 1994.** Microbiological Hazards from red meat and their control. *British Food Journal*, 96: 33-36.
- 52. Moreno, B. 2002.** Análisis microbiológico obligatorio para evaluar la contaminación superficial de las canales, equipo y utensilios. *Eurocarne*, Madrid 103: 1-10.
- 53. Nelson, C.L.; Fox, T.L.; Busta, F.F. 1984.** Evaluation of dry medium Petri film for Coliform enumeration. *Journal of Food Protection*, 47:520-525
- 54. National Advisory of Microbiological criteria for foods. NACMCF. 1993.** Generic HACCP for raw beef. *Food Microbiology*. London 10: 449-488.
- 55. Norman, G. A. 1982.** Effect of breed and nutrition on the productive traits of beff cattle in south-east. Brazil: Part 3-Meat quality. *Meat Sci.; Essex, Eng., .6:* 79-86.
- 56. Nortje y Naudé.1981.** Microbiology of beef carcass surfaces. *J. Food Protec., London*, 44: 355-358.
- 57. Nortje, G. L., Nel, L., Jordaan, E., et al. 1989.** A microbiological survey of fresh meat in the supermarket trade. Part 1: Carcasses and contact surfaces. *Meat Sci., Barking* 25: 81-97.
- 58. Nortje, G. L., Nel, L., Jordaan, E., et al. 1989.** A microbiological survey of fresh meat in the supermarket trade. Part 2: Beef retail cuts. *Meat Sci., Barking*, 25: 99-112.
- 59. Nottingham, P. M.1982.** Microbiology of carcass meats. In BROWN, M. H. *Meat Microbiology*. London. Appl. Sci. Publ., p. 13-66.
- 60. NTP ISO 3100-2. 1999.** Carne y Productos Cárnicos. Muestreo y preparación de muestras de ensayo para análisis microbiológico. INDECOPI. Lima.
- 61. NTP ISO 2293.1998.** Carne y productos cárnicos. Enumeración de microorganismos. Técnicas del conteo de colonias a 30 °C. INDECOPI. Lima.
- 62. NTP 201. 055. 2003.** Carne y Productos Cárnicos. Definiciones, clasificaciones y requisitos de carcasas y carne de bovino. INDECOPI. Lima.
- 63. OIE. 2004.** Informe de la Tercera Reunión del grupo de Trabajo de la OIE sobre Seguridad Sanitaria de los Alimentos derivados de la Producción Animal. Paris. Francia.

- 64. Oliveira, R .2004.** Microbiología da Carne. Laboratorio de Tecnología dos Produtos de Origen Animal. UNES. Botucatu. On Line: <http://www.fca.unesp.br/outros/tcarne/textos/Roca106.pdf>
- 65. OPS/OMS. 2001.** Guía de Sistemas de Vigilancia de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos y la investigación de Brotes. Buenos Aires. 70 p.
- 66. Palumbo, S.A.; Klein, P.; Capra, J.; Eblen, S.; Millar, A,J. 1999.** Comparison of excision and swabbing sampling methods to determine the microbiological quality of swine carcass surfaces. Food Microbiology, 16:549-461.
- 67. Patterson, J.T., Gibas, P. A.1978.** Sources and proprieties of some organism isolated in two abattoirs. Meat Sci., Barking, 2: 263-273.
- 68. Pearson, A. M. 1994.** La función muscular y los cambios post mortem. En: Price, J. K.; Schweigent, B. S. 1994. The science of meat a meat products. 3ª Edición. Cap. 4 .p. 139 – 174.
- 69. Phillips, D.; Alexander, J.; Jodie F.; Dutton, K. M. 2001.** Journal of Food Protection. Calidad microbiológica de la carne de vaca australiana. Artículo De la Visión: Diario de la protección del alimento. 64: 692-696.
- 70. Prändl, O.; Fischer, A.; Schmidhofer, T.; Sinell, H. 1994.** Tecnología e higiene de la carne. p. 757\_ 767. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 71. Purchas, R. W. 1990.** An asseesment of the role or ph differences in determining the relative tendernes of meat from bulls and stres. Meat Sci., Essex, Eng. 27: 129 – 140.
- 72. Quiroga, G.; García de Siles, J.; López, J. 2001.** Manual para el curso Taller Tecnología de Carnes y Productos Cárnicos. p. 8-34. FAO, Colombia.
- 73. Restaino, L.; Lyon, R. H. 1987.** Efficacy of Petrilm VRB for enumerating coliforms and Escherichia coli from frozen raw beef. Journal of Food Protecction, 50:1017-1022.
- 74. Rodríguez, G.; Gary, R.; Acuff ; Castillo, A. 2004.** Development of a carcass saniting spraying sistem for small and very small slaughterrhouses. Departament. of Animal science. University A&M Texas.



75. **Saint, R. D. 1996.** Qualidade das carcacas e da Carne bovina. En: Congreso Brasileiro das racas zebuinas. 27 a 30 de outubro de 1996. Reproducao e genetica aplicada a os zebuinos. 2. p1.
76. **Sánchez, A.; Dorado, MN.; Bermejo, E.; González, J.L. 2001.** Normalización del muestreo y análisis de canales de abasto. Criterios de Calidad. Eurocarne, 987:1-7.
77. **Sánchez, G. 1999.** Ciencia Básica de la carne. 1ª Edición. P.229 – 233. Fondo Nacional Universitario. Santafé de Bogota.
78. **Sánchez, G. 2000.** Técnicas para mejorar la Calidad higiénica y Palatable de la Carne Fresca. En curso: Inspección Sanitaria de la Carne. Abril 25- Mayo22. Santafé de Bogota.
79. **Sanz, M. C.; Verde, M. T.; Sáez, T.; Sañudo, C. 1996.** Effect of bread on the muscle glycogen content and dark cutting incidente in stressed young bulls. Meat Sci., Essex, Eng, 43: 37 – 42.
80. **Secretary of State for Health. 2002.** Statutory Instrument. N°889. Food England, the Meat (Hazard Analysis Critical Control Points) Regulations.
81. **Sikes, A., Maxcy, R. B. 1980.** Postmortem invasion of muscle food by proteolytic bacterium. J. Food Sci., Chicago 45: 293-296.
82. **Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Argentina. 2001.** Anexo II (Circular 3579). Guía de Recomendaciones para unificar Criterios en el marco del anexo de la decisión de la comisión 2001/471/CE. Muestreo Bacteriológico de las carcasas. On Line.<http://www.senasa.gob.pe/Sanidad-Animal/Vigilancia-Zoosanitaria/procedimientos-centro-beneficio.htm>.
83. **Servicio Agrario y Ganadero. SAG. 2004.** Guía de Implementación HACCP para la Industria de la Carne. Santiago de Chile. 78 p.
84. **Servicio Agrícola y Ganadero. SAG. 2003.** Microbiological Sampling Procedure for Slaughtered meat in exportation Slaughterhouses. Santiago. Chile. p. 58
85. **Smith, L.B.; Fox, T. J.; Busta, F.F. 1985.** Comparison of a dry medium culture plate Petrifilm method to the aerobic plate count method for enumeration of mesophilic aerobic colony-forming units in fresh ground beef. Journal of Food Protection, 4:1044 -1045.

- 86. Stopforth, J. D; Samelis, J. N .; Sofos, P. A.; Kemdall, and G.C. Smith. 2003.** Influence of organic acid concentration on survival of *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* 0157:H7 in beef carcass wash water and other model equipment surfaces. *Food microbiology*. 20. 651-660.
- 87. Tarrant, P. V.; Sherinton, J. 1980.** An investigation of ultimate pH in the muscles of commercial beef carcasses, *Meat Sci.*, Essex, Eng 4: 287–292.
- 88. Tesse, M.A.; Tiburzi, M.C.; Rafaguelli, R.C.; Jiménez, S.M. ; Salsi, M.S. ; Moguilevsky, M.A. 2000.** Comparison of Petrifilm and plate count methods for determining the microbial quality of chicken carcasses. Documento técnico del Instituto de Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional del Litoral. Argentina.
- 89. Varner, A.; Sutherland, J. 1995.** Carne y productos cárnicos. Tecnología, Química y Microbiología. 1ª Edición. p. 68-78. Editorial Acribia. Zaragoza.
- 90. Wallace A. 1995.a.** Microbiological Methods AOAC Official Methods of Analysis. Supplement March. Bacterial and Coliform Counts in Milk. 16<sup>th</sup> Edition p 986. pp 10-11.
- 91. Wallace A. 1995. b.** Microbiological Methods. AOAC. Official Methods of Analysis Supplement. March. Aerobic plate count in foods. 16<sup>th</sup> ed. Pp 10-11.
- 92. Whitehead, A. 2000.** Hazard analysis and critical control point (HACCP) as a part of an overall quality assurance system in international food trade. *Food control*. 6: 247 - 251.
- 93. Wilkens, S.; Jacob, A.; Globish, H.; Thien, J. 1996.** Evaluation of the bacterial count on carcass surfaces. Applicability of Petrifilm in comparison to other methods. *Fleischwirtschaft*, 76:1006-1009.
- 94. Yong, H.P.; Keun, S.S.; Jong, S.A.; Han, S.Y.; Sang, P.K. 2001.** Evaluation of the Petrifilm plate method for the Enumeration of aerobic microorganisms and coliforms in retail meat samples. *Journal of Food Protection*, 64: 1841-1843.
- 95. Yu, S.L.; Cooke, P. H.; Tu, S. I. 2001.** Effects of chilling on sampling of bacteria attached to swine carcasses. *Letters in Applied Microbiology*, 32: 205-210.

## **ANEXOS**

## ANEXO N° 1: EJEMPLO DEL CÁLCULO DE MICROORGANISMOS POR ÁREA.

$$N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1 \times n_2) d}$$

N = Número de microorganismos por mililitro.

$\sum c$  = Es la suma de colonias contadas en todas las placas de todas las diluciones.

$n_1$  = Es el numero de placas retenidas en la primera dilución.

$n_2$  = Es el numero de placas retenidas en la segunda dilución

d = Es el factor de dilución correspondiente a la primera dilución.

Colonias contadas en la primera dilución retenida ( $10^{-2}$ ): 19 y 16 (duplicados)

Colonias contadas en la segunda dilución retenida ( $10^{-3}$ ): 5 y 3 (duplicados)

$$N: \frac{19 + 16 + 5 + 3}{2 + (0.1 \times 2) \times 10^{-2}} = \frac{43}{0.022} = 1954.54 \text{ ufc/ml}$$

Para hallar el número de microorganismos por área se utilizó la siguiente fórmula:

$N \text{ ufc/ml} \times 100 \text{ (ml de diluyente)} / 400 \text{ cm}^2 \text{ de superficie hisopada}$

$$N \text{ ufc/ml} / 4 = N^\circ \text{ ufc/cm}^2$$

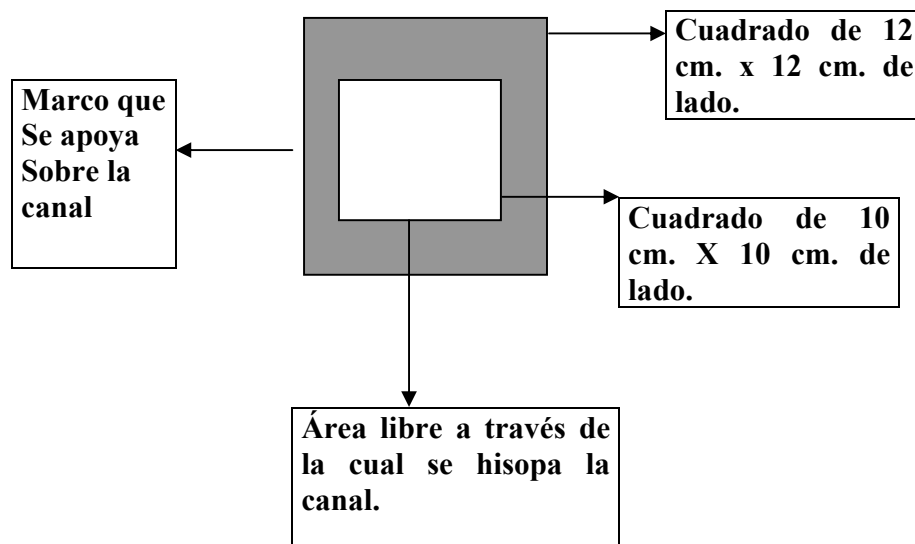
1954.54

$$\frac{1954.54}{4} = 488.635 \text{ ufc/cm}^2$$

$$\underline{\underline{\text{Log } 488.635 \text{ ufc/cm}^2 = 2.68}}$$

## ANEXO N° 2: MARCO PARA DELIMITAR LA SUPERFICIE DE MUESTREO

El marco puede ser descartable o reutilizable. El marco descartable elegido fue de papel metálico. El marco se fabrica utilizando una hoja del material elegido, de mayor tamaño que la superficie a hisopar (10 cm. x 10 cm.). Se dibujan dos (uno dentro del otro) cuadrados (\*) (hisopado de superficie de carcasa). El interno, debe tener 10 cm. x 10 cm. (100 cm<sup>2</sup>) de lado (hisopado de carcasa). La figura externa deberá tener, como mínimo, dos (2) o tres (3) centímetros más que la figura interna. Recortar primero la figura externa y luego la interna, la que se extrae, quedando delimitado el marco de referencia para hisopar la canal. Estos marcos se usaron una vez y luego fueron descartados. El rollo de papel elegido debe conservarse en forma y lugar que eviten toda contaminación. Envolver el marco en papel autoclavable y esterilizar.

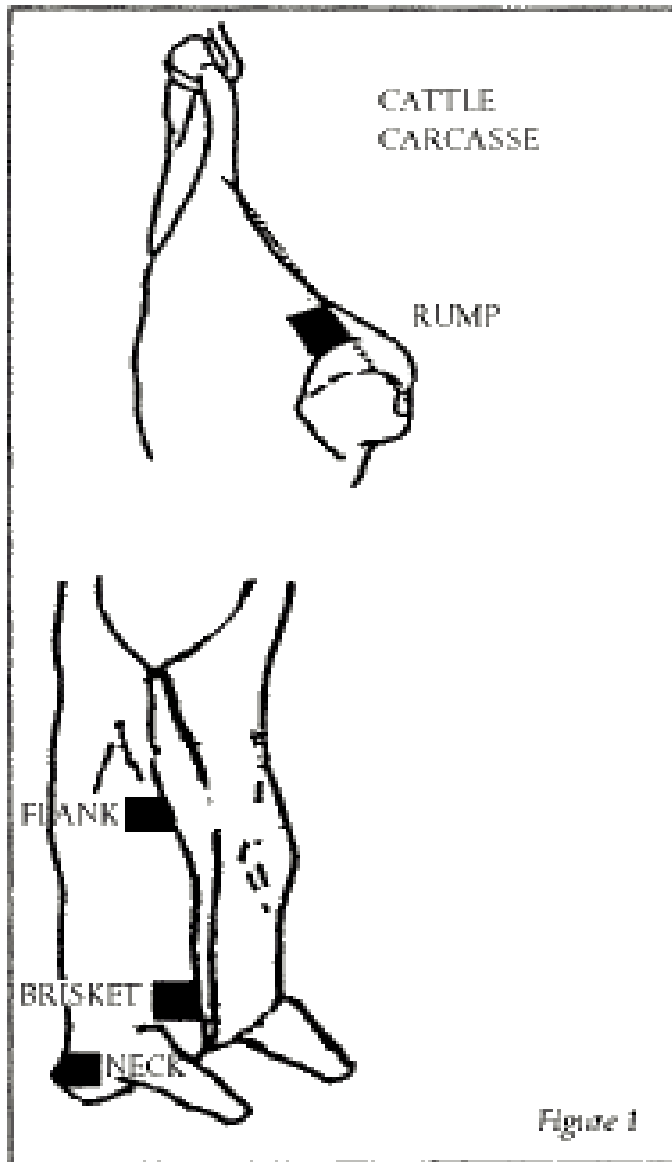


### **ANEXO N° 3: PREPARACIÓN DE LOS HISOPOS Y DETALLE DEL PROCEDIMIENTO HISOPO HÚMEDO-HISOPO SECO**

Los hisopos estériles tuvieron las siguientes características: La cabeza del hisopo (diámetro aproximado: 0.5 cm. x 2 cm. de largo) constituida de algodón, firmemente adherido a un palillo de 12 de largo; envasados en contenedores múltiples con la cabeza alejada del cierre del contenedor. Se adquirió hisopos preesterilizados y se esterilizaron en el laboratorio. En el momento de proceder a hisopar la canal, se extrajo asépticamente el hisopo:

1. Se abrió el contenedor de los hisopos,
2. Se tomó la punta libre del palillo del hisopo, con cuidado para no tocar la cabeza del hisopo que fue utilizada en el hisopado.
3. Se abrió el contenedor de la solución estéril de peptona al 0,1 % y Cloruro de sodio al 0,85 % y sumergió el hisopo durante por lo menos cinco (5) segundos.
4. Se removió el excedente presionando la cabeza del hisopo contra la pared interna del contenedor de la solución peptonada.
5. Sosteniendo el hisopo en un ángulo aproximado de 30° con relación a la superficie de contacto, se frotó el hisopo.
6. Una vez hisopada cada una de las áreas de localización de la canal (Ej.: cuello, pecho, falda y cadera), se posicionó la cabeza del hisopo dentro de la bolsa (la cual fue esterilizada), en la que se reunieron todos los hisopos correspondientes a las diferentes localizaciones de una misma canal y se separó del resto del hisopo quebrándola, dejando la cabeza dentro de la bolsa.
7. Terminada la operación, se repitió con hisopo seco (no humedecido en la solución estéril), el hisopado de cada una de las áreas de localización.

#### ANEXO N° 4: LUGAR DE TOMA DE MUESTRA CARNICA:



Traducción al castellano de los términos en inglés: Cattle carcasse: canal o carcasa de bovino, rump: cadera, flank: falda, brisket: pecho, neck: cuello, figure: figura.

## ANEXO N° 5: CONTROL DE TEMPERATURA DE INCUBACION

N° M	Fecha de Siembra	Hora	T. siembra ° C	T. Control A ° C	T. Control B ° C
De M1 a M8	20/10/04	9:50	35,0	35,3	35,1
De M9 a M16	28/10/04	11:20	34,9	35,5	35,1
De M17 a M23	6/11/04	9:14	35,0	35,1	35,6
De M24 a M30	14/11/04	9:10	35,3	35,4	35,1

Donde: N° M: Número de muestra.

T. siembra ° C: temperatura de siembra en ° C.

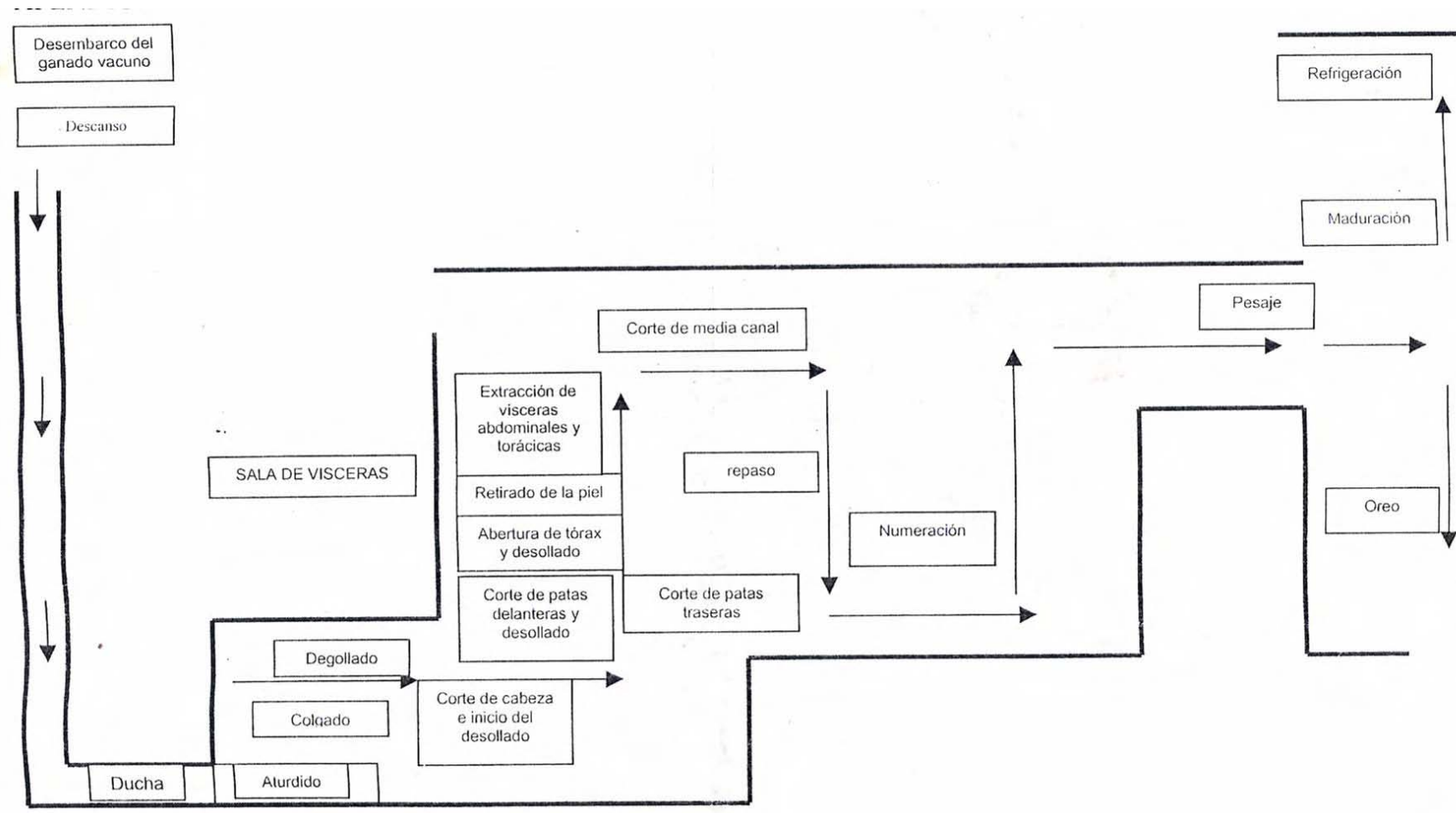
T. control A ° C: Temperatura de control a las 4 horas post siembra en ° C.

T. control B ° C: Temperatura de control a las 24 horas post siembra en ° C.

M1 a M30: muestra 1 a muestra 30.



## ANEXO N° 7: FLUJO DE PROCESO EN LA PLANTA DE FAENAMIENTO DE GANADO VACUNO



## ANEXO N° 8: DECISIÓN DE LA COMISIÓN 2001/147/CE

Guía de recomendaciones para unificar criterios en el marco del Anexo de la Decisión de la Comisión 2001/471/CE (8 de Junio de 2001) por la que se establecen normas para los controles regulares de la higiene realizados por los explotadores de establecimientos de carnes frescas.

### 1. MUESTREO BACTERIOLÓGICO DE LAS CARCASAS

#### **1.1 Lugar de toma de muestra:**

Se tomarán **muestras** de la superficie externa **de cada una de los siguientes sitios de la carcasa**, dependiendo de la especie animal:

**Bovino:** cuello, pecho, falda y cadera.

**Porcino:** lomo, cabeza, jamón y vientre.

**Ovino / Caprino:** falda. Lateral del tórax, pecho y costillar

**Equino:** falda, pecho, lomo y cadera

#### **1.2 Número de muestras:**

Se tomarán muestras de entre cinco (5) y diez (10) carcasas (Se tomará una muestra, de cada uno de los cuatro sitios indicados de cada carcasa, dependiendo de la especie animal), en el mismo día y cada semana. Esta frecuencia se podrá bajar a una vez cada dos semanas cuando se obtengan resultados satisfactorios durante seis semanas consecutivas. El día de la toma de muestras cambiará cada semana.

#### **1.3 Momento de la toma de Muestra:**

La toma de muestras se realizará transcurrida media jornada de trabajo de sacrificio y antes de comenzar la conservación en frío.

#### **Método de muestreo:**

Hay dos posibilidades:

##### **A) Método destructivo:**

Materiales:

- Bisturí o cuchillo, pinza y tijera estériles

- Marco estéril de 5 cm<sup>2</sup> o cualquier otro implemento que permita cortar una muestra como la indicada
- Diluyente: 100 ml de solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % y 0,1 % de peptona
- Bolsas (tipo whirl Pak) o contenedores estériles

**Procedimiento:**

Definir el área de muestreo con un marco esterilizable, apoyándolo sobre la superficie de la carcasa. Con ayuda de pinza y bisturí o tijera estériles, cortar por el borde interno del marco y tomar una muestra de tejido de 5 cm<sup>2</sup> (Ej: 5 cm de largo x 1 cm de ancho ó 2.0 cm x 2.5 cm; espesor máximo: 5mm) de cada uno de los cuatro lugares indicados según la especie animal. Se obtendrán así cuatro muestras de tejido, con un total de 20 cm<sup>2</sup>.

Las muestras se colocarán asepticamente en un contenedor o bolsa plástica estéril (tipo Whirl pak) con 100 ml de diluyente. Rotular, refrigerar y remitir al laboratorio en el que se realizarán los análisis.

**B) Método no destructivo:**

**Materiales:**

- Hisopos de algodón
- Plantilla o marco estéril de **100cm<sup>2</sup>** (10cm x 10cm).
- Diluyente para humedecer hisopos (solución estéril de peptona al 0,1 % y Cloruro de sodio al 0,85 %)
- Bolsas o contenedores estériles
- Diluyente: 100 ml de solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % y 0,1 % de peptona

Utilizar hisopos húmedos y secos para la recolección de muestras. Los primeros deberán humedecerse antes de la toma de muestra, durante al menos 5 segundos, con una solución estéril de peptona al 0,1 % y Cloruro de sodio al 0,85 %. Luego, se deberá frotar un área de 100 cm<sup>2</sup> por cada localización de muestreo (1.1). Primero se frota en sentido vertical, luego horizontal y finalmente en diagonal durante un mínimo de 20 segundos por toda la superficie de la carne, delimitada con la plantilla o marco estéril. Tras la utilización del hisopo húmedo, repetir el mismo procedimiento de muestreo con un hisopo seco.

Se deberá aplicar la mayor presión posible dado que para obtener resultados comparables hay que mantener invariables la coherencia y el rigor de la técnica de unas muestras a otras, de unas carcasas a otras y de unos días a otros. Colocar los hisopos (húmedos y secos) en una bolsa o contenedor estéril a la que se agregarán 100 ml de diluyente.

**Las muestras obtenidas por ambos métodos** se almacenarán refrigeradas a 4 °C hasta que sean analizadas y antes de transcurrir las 24 horas desde la recolección.

Se identificarán las muestras y se registrará:

- la identificación,
- la fecha y
- la hora de toma de cada muestra.

Antes de proceder a su examen, se mezclarán (si no se hubiera hecho así en el lugar de toma de muestra) las muestras de las diversas localizaciones (por ejemplo, cadera, falda, pecho y cuello) de la carcasa que vaya a examinarse (En total ocho hisopos por carcasa: cuatro húmedos y cuatro secos o cuatro tiras de 5 cm<sup>2</sup> correspondientes a los cuatro sitios de toma de muestra de cada carcasa). **Si se llega a resultados inaceptables y las acciones de corrección no conducen a una mayor higiene, no se mezclarán más muestras hasta que se hayan resuelto los problemas de preparación.**

#### **1.5 -Método microbiológico para el examen de las muestras:**

Deberá procederse al examen de las muestras **antes de transcurridas 24 horas desde su recolección.**

Las muestras obtenidas se homogeneizarán durante al menos dos minutos en una bolsa de plástico con los 100 ml de líquido de dilución (solución acuosa de cloruro sódico al 0,9 % y 0,1 % de peptona) mediante Stomacher peristáltico (250 rpm) o mediante un mezclador rotativo (homogeneizador). En su defecto, las muestras recogidas con los hisopos podrán agitarse con fuerza en el líquido de dilución.

Se constituirá así la dilución primaria (tener esto en cuenta al realizar los cálculos de los resultados). Realizar a partir de ésta, diluciones decimales y luego a partir de cada una de ellas, inocular placas para recuento total de bacterias aerobias y de enterobacterias

No obstante, previa autorización de las autoridades competentes y después de haberse establecido los criterios adecuados, podrán emplearse recuentos de *E. Coli* en lugar de los de enterobacterias.

Además de los descriptos, podrán utilizarse métodos ISO para el examen de las muestras. Asimismo se podrá recurrir a otros métodos cuantitativos de análisis de las bacterias mencionadas (Ej: Petrifilm) si están aprobados por organismos científicos reconocidos internacionalmente, tras el visto bueno de las autoridades competentes

#### **1.6 -Registro**

Todos los resultados de las pruebas se registrarán en términos de unidades formadoras de colonias (ufc)/cm<sup>2</sup>. Para que sea posible la evaluación de los resultados de los registros, se confeccionarán cuadros de control en los que se presentarán en orden cronológico los resultados de las pruebas de, al menos, las últimas 13 semanas.

En el registro figurará:

- el tipo, el origen y la identificación de la muestra.

- la fecha, hora de su recolección y el nombre de la persona que tomó la muestra.
- el nombre y dirección del laboratorio que analizó la muestra.
- la fecha del análisis de las muestras en el laboratorio y los detalles del método utilizado, con inclusión de:
  - número de diluciones efectuadas,
  - número (individual o por duplicado) y tipo de placas ( PCA, VRBD, Petrifilm) inoculadas por dilución,
  - temperatura y tiempo de incubación de las placas y
  - los resultados expresados en ufc/placa, que permitan calcular el resultado en ufc/cm<sup>2</sup> (Anexo 5) y la conversión de éste a logaritmo.

Firmará el registro un responsable del laboratorio. Los documentos se conservarán en el establecimiento durante, al menos, 18 meses. Se presentarán a petición del inspector oficial del SENASA.

#### 1.7- Aplicación de los criterios microbiológicos a los resultados de los análisis de muestras

Los recuentos bacterianos se caracterizan por presentar una distribución asimétrica. Uno de los modelos de distribución que describen las formas asimétricas es el de la distribución logarítmica. En este modelo, si se transforman los datos obtenidos en su logaritmo, los nuevos valores siguen una distribución normal.

Por lo tanto, los valores obtenidos en ufc/cm<sup>2</sup>, deberán ser convertidos a logaritmos para que puedan ser tratados como provenientes de una distribución normal.

#### **Muestras tomadas por el método destructivo (cuadro 1):**

Los valores diarios de la media logarítmica se distribuirán en tres categorías para la verificación del control del proceso:

##### **Acceptables, Dudosos e Inacceptables.**

«M» y «m» representan los límites superiores de las categorías precaria y aceptable en el caso de muestras tomadas por el método destructivo.

Para uniformizar los procesos industriales y facilitar la creación de una base válida de datos de referencia, es imprescindible utilizar el método disponible más fiable. **Por ello conviene recordar que con la técnica de hisopo, no destructiva, se recoge sólo una proporción (con frecuencia, del 20 % o menos) de la flora total presente en la superficie de la carne, por lo que sólo constituye un indicador de la higiene de dicha superficie.**

**Cuadro1-**Valores diarios de la media logarítmica de resultados aceptables, dudosos e inaceptables de contaminación (expresados en ufc/cm<sup>2</sup>) de bovinos, porcinos, ovinos, caprinos y equinos; muestras tomadas mediante el método destructivo:

Parámetro	Valores aceptables		Valores dudosos (> <b>m</b> pero ≤ <b>M</b> )	Valores Inaceptables (> <b>M</b> )
	Bovinos/Ovinos/caprinos/Equinos	Porcinos	Bovinos/porcinos/Ovinos/caprinos/Equinos	Bovinos/porcinos/Ovinos/caprinos/Equinos
Recuento Total de Colonias Aerobias	< 3.5 Log	<4.0 Log	<3.5 Log (porcinos: <4.0 Log)-5.0 Log	>5.0 Log
Enterobacterias	<1.5 Log	<2.0 Log	1.5 Log (porcinos:2.0 Log)- 2.5 Log (porcinos: 3.0 Log)	>2.5 Log (porcinos:>3.0 Log)

**Métodos distintos al destructivo:**

Si se los utiliza, habrá que establecer individualmente, para cada método aplicado, los criterios de contaminación bacteriana, de modo que puedan cotejarse con el método destructivo y puedan ser aprobados por las autoridades del SENASA.

**1.8- Criterios de verificación**

Los resultados de las pruebas se clasificarán de acuerdo con los respectivos criterios microbiológicos en el mismo orden en que se recogieron las muestras. Conforme se obtiene el resultado de cada nuevo análisis, vuelven a aplicarse los criterios de verificación para evaluar la situación del control del proceso en cuanto a la higiene y a la contaminación fecal.

Si se obtiene un resultado inaceptable o una tendencia a los resultados dudosos, deben revisarse los controles del proceso, descubrir las causas, si es posible y evitar que tal situación se reproduzca.

**1.9- Comunicación de los resultados**

Los resultados de los análisis se comunicarán a los responsables lo antes posible. Serán empleados para mantener y mejorar las condiciones higiénicas del sacrificio. Las causas de los resultados dudosos o inaceptables podrán aclararse mediante consulta con el personal del matadero; podrían intervenir los siguientes factores:

- (1) malos procedimientos de trabajo,

- (2) formación e instrucciones inexistentes o insuficientes,
- (3) uso de materiales y productos inapropiados de limpieza y desinfección,
- (4) mantenimiento incorrecto de los aparatos de limpieza o
- (5) supervisión inadecuada.